

ANNEE 1974

N°

N° 7

Contribution à l'étude des mycobactéries atypiques

THESE

POUR LE DOCTORAT D'UNIVERSITE

(Mention Médecine)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

LE 22 FEVRIER 1974

PAR

Simon NDARURINZE

né à Kitega (BURUNDI) le 6-6-1934

Président du Jury : Melle le Professeur ORFILA
Juges : Mr le Professeur BERNASCONI
: Mr le Professeur STOPPA
: Mr le Professeur LEVI-VALENSI



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551517_0014

ANNEE 1974

N°

Contribution à l'étude des mycobactéries atypiques

THESE

POUR LE DOCTORAT D'UNIVERSITE

(Mention Médecine)

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

LE 22 FEVRIER 1974

PAR

Simon NDARURINZE

né à Kitega (BURUNDI) le 6-6-1934

Président du Jury : Melle le Professeur ORFILA
Juges : Mr le Professeur BERNASCONI
: Mr le Professeur STOPPA
: Mr le Professeur LEVI-VALENSI

A MON PERE

A MA MERE

qui furent à l'origine de ma vocation
qu'ils recueillent dans ce travail l'ex-
pression de ma profonde affection.

A MES FRERES

A MA SOEUR

A MA FEMME

A MES ENFANTS

qui m'ont apporté leur soutien dans toutes
mes études je leur dédie ce travail avec
l'expression de mon affection.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Mademoiselle le Professeur ORFILA
Professeur titulaire de la Chaire de Bactériologie,
Virologie, Immunologie générale
Officier des Palmes Académiques

Vous nous avez inspiré le sujet de cette thèse,
vous nous avez toujours reçu avec bienveillance pour
nous guider de vos conseils tout au long de sa réalisation.

Vous nous avez fait le grand honneur d'en accepter la présidence.

Nous vous en remercions et nous vous exprimons
notre profonde gratitude.

A NOTRE JUGE

Monsieur le Professeur BERNASCONI
Professeur de Pathologie interne
Médecin des Hôpitaux
Doyen de la Faculté de Médecine
Croix de Guerre 1939-1945
Chevalier des Palmes Académiques.

Votre présence au sein de ce jury nous honore.

Nous avons été sensible à la grande bienveillance que vous lui avez toujours témoignée.

Soyez assuré, cher Maître de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A NOTRE JUGE

Monsieur le Professeur STOPPA
Professeur de clinique chirurgicale
Chirurgien des Hôpitaux
Chef de Service
Croix de Guerre 1939-1945

Vous nous avez fait bénéficier de votre
enseignement à la Faculté.

Vous nous faites l'honneur de bien vouloir
juger ce travail.

Nous vous remercions vivement et nous
vous prions de croire à notre plus profond respect.

A NOTRE JUGE

Monsieur le Professeur LEVI-VALENSI
Professeur sans Chaire de Pneumophtisiologie
Médecin des Hôpitaux,
Maître de Conférence
Chef de Service
Croix de la Valeur Militaire

Qui nous a conseillé ce travail et auprès de
qui nous avons toujours trouvé bienveillance et ap-
pui.

Vous avez accepté d'être notre juge.

Nous vous en remercions et nous vous expri-
mons notre profond respect.

A Monsieur le Professeur PERDU

Doyen Honoraire de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie d'Amiens

Professeur titulaire de Chaire d'Anatomie,
Chirurgien des Hôpitaux,

Chef de Service

Chevalier de la Légion d'Honneur

Commandeur des Palmes Académiques

qui nous a accueilli dès notre arrivée
en France qu'il trouve dans ce travail l'ex-
pression de notre profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur LAUDE
Professeur à titre personnel

Qui nous a accueilli et qui a accepté
de diriger le début de nos études, qu'il trouve
dans ce travail l'expression de notre entière
reconnaissance.

A LA MEMOIRE DE

Monsieur le Docteur Louis Paul AUJOULAT,
Directeur Général au Ministère de la Santé
et de la Coopération

qui nous a orienté dans notre vocation.

Son aide nous a été très précieuse il restera
toujours présent à notre souvenir.

A MES MAITRES

Monsieur le Professeur ABOURACHID
Monsieur le Professeur BAILLET
Monsieur le Professeur BOULANGER
Monsieur le Professeur DELCOUR
Monsieur le Professeur DESMET
Monsieur le Professeur GALIBERT
Monsieur le Professeur HARICHAUX
Monsieur le Professeur LORRIAUX
Monsieur le Professeur MESSERSCHMITT
Monsieur le Professeur MIZON
Monsieur le Professeur ODIER
Monsieur le Professeur PIETRI
Monsieur le Professeur PLAQUET
Monsieur le Professeur PIUSSAN
Monsieur le Professeur QUICHAUD
Monsieur le Professeur VITZE
Monsieur le Professeur VIVES

avec notre reconnaissance.

A Monsieur le Docteur CADOT,
Médecin Directeur du Centre de Rééducation Fonctionnelle
et de Réadaptation Professionnelle le Belloy

qui nous a aidé dans ce travail, avec notre
reconnaissance.

A Mademoiselle Lysiane DOUCHET

qui nous a aidé dans ce travail avec notre recon-
naissance.

A Mademoiselle Marie LABICHE

qui nous a aidé dans ce travail, avec notre recon-
naissance.

A Madame Hélène LECLERCQ

qui nous a aidé dans ce travail, avec notre recon-
naissance.

MYCOBACTERIES ATYPIQUES

I - INTRODUCTION & HISTORIQUE -

1 - INTRODUCTION

Le nombre de mycobactéries atypiques augmente de par le monde.

A l'occasion de quelques cas rencontrés à l'Hôpital d'AMIENS, nous avons tenté de présenter une mise au point générale de la question.

Ce vocable impropre de MYCOBACTERIES ATYPIQUES, mais encore consacré par l'usage, désigne aujourd'hui un ensemble de bacilles parmi lesquels on trouve :

- MYCOBACTERIUM KANSASII
- MYCOBACTERIUM AVIUM
- MYCOBACTERIUM XENOPHILI
- MYCOBACTERIUM GORDONAE
- MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE
- MYCOBACTERIUM SCROFULACEUM
- MYCOBACTERIUM ULCERANS
- MYCOBACTERIUM BALNEI

ainsi que de nombreuses espèces non citées ici, qui sont susceptibles de provoquer chez l'homme des infections pulmonaires ou ganglionnaires, plus rarement des infections osseuses, génito-urinaires cutanées et septicémiques.

L'appellation " de Mycobactéries atypiques " a été donnée parce qu'elles ont été isolées chez des personnes porteuses de lésions pour lesquelles le diagnostic de tuberculose commune avait été porté. Or, il fut surprenant de constater que les caractères morphologiques, biochimiques, culturels, expérimentaux et thérapeutiques des souches isolées étaient " atypiques " pour un bacille tuberculeux habituel.

Le nombre de ces espèces augmente progressivement et échappe aux efforts d'une lutte antituberculeuse dans tous les pays. Cet échec peut être expliqué par une diffusion de plus en plus grande dans le monde naturel, chez les animaux et chez les hommes. On peut les rencontrer en dehors de toute manifestation pathologique.

L'absence quasi constante de contamination interhumaine constitue des éléments susceptibles de rendre difficile une prophylaxie.

On appelle mycobactérioses les maladies provoquées par les mycobactéries "atypiques".

II - HISTORIQUE

Parmi les actinomycetales, le genre mycobacterium comporte de nombreuses espèces ; certaines parmi elles sont pathogènes pour l'homme, pour les animaux ; les autres, plus nombreuses encore, sont rencontrées partout, dans la terre, l'eau, le fumier, sur les herbes des champs, dans les aliments, mais aussi au niveau des muqueuses ou sur la peau d'individus sains,

L'étude de ces germes a débuté depuis près d'un siècle pour les bacilles tuberculeux habituels. Les secondes espèces qui nous occupent ici sont demeurées dans l'ombre, et ce n'est qu'au cours des deux dernières décennies que l'ensemble jusque là homogène des bacilles paratuberculeux a pu être démembré. TISON CARBONNELLE (53) DEVULDER (15).

Il semble que la première description de ces germes dits commensaux, soit due à ZAHN en 1884, qui attirait l'attention sur la présence dans les crachats d'un sujet non phtisique, d'éléments microbiens ressemblant aux bacilles tuberculeux et résistant comme lui à la double décoloration utilisée pour l'étude des bacilles tuberculeux connus.

A partir de 1889, DIETRICH découvre dans le pus d'un kyste de l'ovaire, des bacilles acido-alcool-résistants non associés à tout autre germe. Le produit pathologique prélevé et inoculé au cobaye ne provoqua aucune infection chez cet animal.

CALMETTE, en 1920, évoque que certains bacilles paratuberculeux sont peut-être pathogènes, du moins que leur présence n'est pas étrangère à la formation de certains abcès.

En 1928, BAEVEN et BAYENES JONES découvrent dans le liquide pleural d'une fillette âgée de 11 semaines et atteinte d'une maladie broncho-pulmonaire extensive, ressemblant à la tuberculose, une souche bacillaire unique qui pousse à 37° C mais aussi à 22°C, cultivant et poussant sur gélose ordinaire en 24 heures de temps, légèrement pigmentée en jaune et non pathogène pour les animaux de laboratoire.

Différents auteurs VALTIS-PAISSEAU, VAN DEINSE en 1932, PINER en 1935, CRUZ en 1938, LENEGRE en 1939, BALDWIN en 1942 et CORY en 1945 se sont attachés à l'étude de ce problème et ont décrit différentes espèces.

Une étape plus importante est franchie en 1946, quand HAUDUROY dresse l'inventaire des bacilles acido-alcool-résistants non tuberculeux, répertoriés jusqu'alors, et il dénombre à cette occasion 160 cas déjà décrits. Il conclut : "Les bacilles paratuberculeux sont virulents pour l'homme, provoquant chez lui des infections diverses, mais de gravité mineure dans son ensemble".

C'est en 1949 que CUTTINO et MAC CABE rapportent une observation chez une fillette de 34 mois, présentant une infection généralisée, associée à des lésions nécrotiques découvertes à l'autopsie. A ce moment-là, l'attention n'est pas attirée sur le rôle pathogène de la mycobactérie notée. Ce n'est que plus tard que le tableau a été rattaché à une mycobactérie du type aviaire.

En 1953, BULHER et POLLAK isolent à Kansas City, chez deux malades, des bacilles acido-alcool-résistants, de même ressemblance que la bacille de Koch, mais n'ayant pas de pouvoir pathogène pour le cobaye présentant une pigmentation jaune, ce qui les amène à dénommer ce genre de bacille : Yellow bacillus. L'un des deux malades présentait depuis des années une affection pulmonaire semblable à la tuberculose. La biopsie après le décès de ce malade confirmait des lésions excavées identiques aux cavernes tuberculeuses.

HAUDUROY, en 1955, remplace yellow bacillus par la dénomination actuelle, mycobacterium kansasii, plus conforme à la nomenclature.

Quelques années plus tard, RUNYON en 1959, conscient de la fréquence croissante de ce type d'infection dans certaines régions des Etats-Unis, propose pour la première fois un essai de classification bactériologique de ces bacilles, autrefois qualifiés d'anonymes, d'atypiques, voire même pour certains auteurs de saprophytes ou de non pathogènes.

La même année, PENSO au Colloque International d'ANVERS, propose le terme de mycobactériose, et distingue les formes ganglionnaires, pulmonaires, urinaires et cutanées de cette affection.

RUNYON et BONICKE en 1960, décrivent le spectre amidasique des mycobactéries.

La même année, VIRTANEN étudie l'aptitude des mycobactéries à utiliser et à transformer les nitrates en nitrites.

Simultanément, ANDREJEW, GERNEZ-RIEUX et TACQUET consacrent leurs études à l'activité lipasique de ces différentes espèces. En plus, ils étudient l'activité peroxydasique des mycobactéries.

C'est en 1961 que fut mise en évidence par TACQUET l'action du mycobactérium pellagrino sur le paranitrophénol, propriété qui était rencontrée chez les Nocardia.

En 1966, TACQUET et TISON appliquent aux mycobactéries la recherche de la Bêta galactosidase. La même année, M. CASTETS et H. BOISVERT colligent les bacilles tuberculeux trouvés en Afrique et attirent l'attention sur les caractères enzymatiques et culturels particuliers aux espèces africaines qui occupent une position intermédiaire entre le type humain et le type bovin.

En 1967, TSUKAMURA étudie les espèces lentes et les espèces rapides. La même année, WAYNE, KUBICA, RUNYON replacent les souches dans quatre groupes de la classification de RUNYON, en

mentionnant les dénominations qui doivent être évitées.

Pendant ces cinq dernières années, de nombreux auteurs se sont penchés sur l'étude de ces germes : CH. GERNEZ-RIEUX, B. DEVULDER et J. DEBRUNYE (19), plus particulièrement au Colloque International de BORDEAUX en 1970.

La même année, WAYNE complète cette étude. Il montre que le *mycobacterium aquae* décrit par GALLI VALERIO en 1922 correspond plutôt au *mycobacterium smegmatis*, et que d'autres espèces de *mycobacterium* scotochromogènes à croissance lente isolées des robinets doivent porter le nom de *mycobacterium GORDONAE*. Il apparaît donc que la classification des mycobactéries n'est pas encore parfaitement établie.

II - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

A. IDENTIFICATION DES MYCOBACTERIES

1) TECHNIQUE DE DECONTAMINATION

Sauf les produits stériles que l'on peut ensemer directement sur milieux spéciaux pour identifier et rechercher les bacilles tuberculeux et paratuberculeux (liquides pleuraux sérofibrineux, épanchements synoviaux apurulents, liquides céphalo-rachidiens, etc...), la plupart des autres produits pathologiques qui sont contaminés à l'avance doivent subir une décontamination respectant les mycobactéries.

Les méthodes suivies sont la technique de SAENZ et COSTIL l'acide sulfurique, la technique de PITROFF en 1961, modifiée la technique de NELLES et NOBIUS au désobutyl naphtalène sulfonate, celle de TACQUET et TISON (1954, 1961) au lauryl sulfate de sodium alcalin qui est aujourd'hui reconnue la plus efficace. Cette méthode a le triple mérite d'être peu toxique pour les mycobactéries, d'assurer une décontamination excellente et de provoquer en plus une homogénéisation satisfaisante des produits de grande viscosité (TISON, CARBONELLE (53)).

TECHNIQUE

Addition à 2 ml de produits pathologiques à examiner, de 3 ml d'une solution mouillante aqueuse comportant 30 ‰ de lauryl sulfate de sodium pur et 10 ‰ de soude pure (en pastille)

Pendant 30 minutes, agiter le mélange dans un tube conique.

Neutraliser par une solution stérile et aqueuse contenant 1,5 ‰ d'acide orthophosphorique et 2 ‰ de pourpre de bromocrésol au 1/250.

Centrifuger à nouveau pendant 30 minutes le 2ème mélange à 3000 tours par minute.

Décanner le surnageant.

L'examen optique s'effectue sur 11 gouttes du culot de centrifugation.

Le reste du culot est ensemé sur milieux de Loewenstein-Jensen (2 tubes) et de Coletsos base (2 tubes). Ce dernier milieu est ensuite enrichi en oligo-éléments favorisant à cet effet une croissance très abondante et rapide de nombreuses souches de mycobactéries.

2) TECHNIQUE DE DETECTION OPTIQUE DES MYCOBACTERIES

Deux méthodes sont utilisées : (VIALLIER M. J. (63)).

a - La technique classique de Ziehl-Nelsen :

Fixer les frottis à la chaleur et disposer ceux-ci sur une platine chauffante à 55°C. Recouvrir les frottis de la solution de Ziehl, laisser agir une dizaine de minutes avec émission de vapeur sans aller jusqu'à la dessiccation. Laver à l'eau ordinaire et décolorer en plongeant les frottis pendant 4 à 5 minutes dans un bain d'acide nitrique à 33 %. Après un deuxième lavage, recouvrir les lames d'alcool à 95 ° pendant 5 minutes environ jusqu'à la décoloration complète. Laver à nouveau, Recouvrir d'une solution de bleu de méthylène pendant 5 minutes. Laver, sécher et examiner à l'immersion.

Les mycobactéries (bacilles tuberculeux et bacilles atypiques) sont colorées en rouge, les autres germes en bleu.

b - La technique de coloration de Tan-Tiam-Hok modifiée par Devulder :

Fixer les frottis à la chaleur (platine chauffante à 75°C). Faire baigner à froid pendant un peu plus de 3 heures dans la solution de Kinyoun :

- Fuschine basique	40 g
- Phénol	80 ml
- Alcool éthylique à 95°	200 ml
- Eau distillée	1 000 ml.

Laver à l'eau. Recouvrir les lames pendant 5 minutes avec la solution de Gabett ;;

- Bleu de méthylène	10 g
- Acide sulfurique à 60 %	200 ml
- Alcool absolu	300 ml
- Eau distillée	500 ml.

Laver à nouveau, sécher et examiner à l'immersion.

Les mycobactéries sont rouges sur fond bleu et les mycobactéries atypiques paraissent dans leur ensemble plus intensément colorées.

c) Microscopie en fluorescence :

Décrite pour la première fois par HAGEMANN en 1937 et étudiée dans la thèse de J. AUGIER, VIALIER (63).

Depuis ce temps, de nombreuses publications ont été faites, notamment par R. PARROT, J. AUGIER, B. DASHAIS, Mme Ch. GEBUSON et P. GILLET.

PREPARATION DES COLORANTS :

1 Solution de Rhodamine

- | | |
|-----------------|----------|
| - Rhodamine | 0,50 g |
| - Eau distillée | 1 000 ml |

2 Solution d'Auramine

- | | |
|-----------------|-----------|
| - Auramine | 1 g |
| - Eau distillée | 1 000 ml. |

3 Solution d'alcool chlorhydrique

- | | |
|--|---------|
| - Acide chlorhydrique concentré commercial | 4 ml |
| - Chlorure de sodium | 4 g |
| - Alcool à 70° | 1000 ml |

TECHNIQUE

- Par J. VIALIER (63) en 1971

Faire des frottis minces et homogènes.

Fixer à la chaleur, refroidir puis recouvrir les lames de chloroforme pendant 1 à 5 minutes.

Rincer à l'acétone pour éliminer les traces de graisses, puis à l'eau pour réhydrater.

Recouvrir la préparation de rhodamine B pendant 1 à 5 minutes. Jeter le produit sans laver et recouvrir de solution d'auramine 00 pendant 5 à 10 minutes à froid on différencie par l'alcool chlorhydrique en versant et en rejetant 15 à 30 secondes pour éliminer l'excès de colorant. Laver à l'eau, sécher et examiner.

INCONVENIENTS

La technique ne repose que sur la luminescence de germes, plus que sur l'aspect morphologique précis, d'où la possibilité d'erreurs. Cependant, une étude très sérieuse est possible avec un personnel bien entraîné, car les bacilles tuberculeux et mycobactéries ont, à la fluorescence, un aspect morphologique et une luminescence typique qui fait qu'on les reconnaît aisément.

- Procédé de fluorescence inspiré par HAUDUROY et POSTERNAK repris par DUGOMMIER, GERNEZ-RIEUX, TACQUET, DEVULDER et DEBRUNYE (19)

Fixer des frottis à l'alcool méthylique.

Traiter les plaques par l'acide trichloracétique, colorer par l'auramine phéniquée, décolorer par l'acide-alcool et éliminer des fluorescences parasites par la thiazine phéniquée.

Ces deux techniques révèlent l'acido-alcool-résistance des bacilles tuberculeux et des mycobactéries atypiques, les autres germes, non acido-alcool-résistants ne peuvent pas fixer la fluorescéine.

B. CRITERES D'ORIENTATION DE DIAGNOSTIC DE L'ESPECE

1° RECONNAISSANCE DU GENRE MYCOBACTERIUM :

Elle se fait après isolement sur milieu de Loewenstein-Jensen et de Coletsos. Il est nécessaire d'étudier :

a) La Vitesse de la primo-culture :

<i>Espèce de Mycobactérie</i>	<i>Temps de la primo-culture</i>	<i>Qualification selon la vitesse de végétation</i>
<i>Mycobacterium phlei</i> <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Mycobacterium fortuitum</i> <i>Mycobacterium chelonae</i>	2 à 5 jours	Rapide (EUGONIQUES)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium kansasii</i> <i>Mycobacterium gordonae</i>	15 jours à 4 semaines	Normale (EUGONIQUES)
<i>Mycobacterium bovis</i> <i>Mycobacterium ulcerans</i> <i>Mycobacterium xenopi</i>	3 à 9 mois	Lente (DYSGONIQUES)

b) Aspect des colonies (Test sur milieu Loewenstein-Jensen et de Coletsos) :

<i>Espèces de Mycobactéries</i>	<i>Aspect des colonies</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium kansasii</i> <i>B. C. G.</i>	<i>Sèches - mates - rigueuses -</i> <i>se délitant mal, à l'eau don-</i> <i>nant des suspensions grume-</i> <i>leuses.</i>
<i>Mycobacterium bovis</i> <i>Mycobacterium avium (typiques)</i> <i>Mycobacterium avium (atypiques)</i>	<i>Lisses et humides</i> <i>" "</i> <i>Colonies S</i> <i>en émulsion colonies R.</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>(I. N. H. résistants)</i>	<i>Colonies S.</i>
<i>Mycobacterium intermédiaires</i>	<i>Colonies mixtes R et S</i>

c) Pigmentation de la culture

Espèces Mycobactériennes	Pigmentation
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium bovis</i> <i>Mycobacterium aviaire</i> <i>Mycobacterium fortuitum</i>	Milieu à l'oeuf teinte ivoire plus ou moins foncée en vieillissant devient beige. Pigmentation claire Blanc chamois Verdâtre (il concentre le vert malachite)
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	Jaune, ou jaune orange pendant la croissance à l'obscurité.
<i>Mycobacterium kansasii</i> <i>Mycobacterium marinum</i>	Exposition à la lumière teinte jaune orange après réincubation (Technique de photo-induction) Idem.

TECHNIQUE DE PHOTO-INDUCTION

Dès l'apparition des colonies suffisamment développées en phase logarithmique de croissance, un tube de culture est exposé pendant 1 heure à 50 cm de la lumière fluorescente d'une ampoule de 50 Watts.

Un autre tube qui doit être couvert de papier est conservé à l'étuve pendant 24 heures.

Les colonies qui ont été exposées à la lumière prennent une pigmentation jaune orangée ou rouge par rapport au témoin. Ces colonies sont alors appelées photochromogènes.

CAUSES D'ERREURS

L'âge de la culture peut fausser les résultats, mais également l'insuffisance de l'oxygénation inhérente à la fermeture hermétique des tubes.

La différenciation entre nocardia et mycobactéries : ces deux espèces sont acido-alcool-résistantes mais leur mode de culture est différent. Examinés en couche mince, on peut différencier des actinomycètes et des mycobactéries. Après examen microscopique, les colonies des mycobactéries ont des contours réguliers ; les nocardia ont par contre des contours irréguliers, plus ramifiés, et en périphérie on observe des branchements caractéristiques.

Deux techniques permettent cette étude.

On coupe trois demi-lames dans le sens longitudinal. On les stérilise et on les dispose au fond d'une boîte de Pétri de 9 cm de diamètre.

10 ml de milieu Dubos gélosé en fusion à 56° C sont répan-
dus sur les lames qui sont refroidies ensuite.

Chaque lame ainsi préparée et recouverte de sa couche solidifiée de gélose est introduite dans un tube stérile de 20 x 200.

On prélève 0,1 ml d'une culture en milieu liquide dilué à 10^{-5} qui est répandu sur les lames de gélose.

Les lames sont portées alors à l'étuve pendant quelques jours à 30°C et 37°C, ce qui permettra d'observer de très petites colonies bien séparées, situées sur les lames. Celles-ci sont retirées des tubes et examinées à sec à un fort grossissement de 250.

INCONVENIENTS

Végétations très abondantes.

Les milieux de Middlebrook peuvent provoquer des pseudoramifications pouvant prêter à confusion et faire errer l'interprétation.

RESULTATS

Les mycobactéries ont des colonies en amas bien limitées, se développant à 37°C, dépourvues de branchements véritables.

Les nocardia ont des colonies irrégulières s'étendant à la surface du milieu ; les ramifications sont nettes, visibles à la périphérie ; leur développement se fait surtout à 30°C.

La préparation des lames se fait comme plus haut, mais elles sont recouvertes d'une couche de gélose Sabouraud.

On couvre la lame d'une lame porte-objet stérile, puis 1 goutte de semence est disposée à chaque angle du support.

La dilution est échelonnée à 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} et 10^{-7} . On porte les lames à l'étuve en vase hermétiquement fermé (boîte de Pétri de gros calibre bien bouchée).

Après végétation, l'examen se fait directement par coloration vitale au microscope.

d) Séparation de différentes mycobactéries dans la culture :

Plusieurs mycobactéries peuvent se présenter dans un même produit à analyser, par exemple : *Mycobacterium bovis* - *tuberculosis* - *avium*, ou *Mycobacterium tuberculosis* et *kansasii*.

La dissociation consiste à obtenir sur des milieux spéciaux des colonies isolées par dilution.

La culture à étudier est diluée comme suit à raison de 1 mg/ml. Cette émulsion est diluée à 10^{-4} et à 10^{-6} . Ci-dessous la technique.

<i>Nombre de bacilles visibles à l'examen microscopique</i> <i>Objectif à immersion</i>	<i>Dilution à ensemer</i>	
	<i>sur tubes témoins</i>	<i>sur tubes antibiotiques</i>
<i>Moins de 10 bacilles pour 100 champs</i>	1	1
<i>10 à 100 bacilles pour 100 champs</i>	1 et 10^{-2}	1 et 10^{-2}
<i>1 à 10 bacilles pour 1 champ</i>	1 10^{-2} et 10^{-3}	1 et 10^{-2}
<i>10 bacilles pour 1 champ</i>	10^{-1} et 10^{-3}	10^{-1} et 10^{-3}

On ensemence chaque dilution sur des boîtes de Pétri d'un diamètre de 10 cm renfermant un milieu à l'oeuf, et sur un tube de gélose nutritive qui permettra de vérifier l'absence de flore associée.

0,5 ml de culture est porté sur chaque boîte de Pétri et bien réparti sur la surface de la lame ; on incube en milieu humide pour éviter l'évaporation.

Le lendemain, on lute la boîte, on la repose face tournée par dessous, à température convenable. La suspension à 10^{-6} donne en général des colonies distinctes. Dès que la culture est bien développée et identifiable (après photo-induction s'il y a lieu), on peut prélever en s'aidant d'un binoculaire, les colonies d'aspect différent. Ensuite, on effectue un repiquage sur les tubes de milieu à l'oeuf en vue d'identification.

Si le mélange contient des germes sensibles au P.A.S. (bacilles tuberculeux ou bovins par exemple) et des germes P.A.S. résistants (*Mycobacterium kansasii* ou *avium*), la séparation peut être obtenue par ensemencement des dilutions de P.A.S. Ces dilutions se font comme suit :

P.A.S. 0,12 - 0,25 - 1 - 10 mcg/ml, selon la gamme simplifiée.

P.A.S. 0,25 - 0,50 - 1 mcg/ml seule espèce résistante, poussera sur des concentrations élevées.

2° ETUDE DES CARACTERES BIOCHIMIQUES

a) Extraction de l'acide nicotinique (Niacin test) ou TEST DE KONNO en 1956, BOISVERT (4), VIALLIER, AUGAGNEUR (61), TISON, CARBONELLE (53).

On ajoute 1 ml d'eau distillée à la surface de la culture le tube étant maintenu incliné de telle sorte qu'il en soit imprégné. Le contact dure 20 minutes. L'eau est ensuite récupérée dans un tube à hémolyse.

REACTION

Àjouter au tube 1 goutte d'aniline.

Agiter et doubler le volume avec une solution fraîche de bromure de cyanogène à 10 %. Agiter, lire après 15 minutes d'exposition à la lumière.

Après lecture de la réaction, ajouter quelques gouttes d'ammoniaque pour arrêter le dégagement de gaz lacrymogène. Pour éviter une coloration parasite, il est recommandé d'effectuer cette recherche sur les souches photochromogènes avant l'épreuve de photo-induction.

LECTURE ET INTERPRÉTATION

Une réaction positive se manifeste par l'apparition d'une teinte jaune, notée selon son intensité.

Une solution incolore indique que la réaction est négative.

RESULTATS

Seul le *Mycobacterium tuberculosis* est positif. Les autres mycobactéries ont une réaction négative.

En effet, le test de KONNO ne permet pas d'identifier d'une façon précise les souches humaines et les souches bovines. De ce fait, une souche bovine bien adaptée à l'organisme humain sera niacin positif ou une souche humaine soumise à une agression chimiothérapique sera niacin négatif, la cause d'erreurs d'identification de la souche.

b) Réaction au BSH ou test à l'hydrazide de l'acide thiophène 2 carboxylique :

Sensibilité au TCH, test proposé par BONICKE en 1958 étudiée encore par TACQUET, TISON, CARBONNELLE (53) en 1960 permet de distinguer le bacille bovin et humain, non isoniazido-résistant et des mycobactéries atypiques par la sensibilité à 10 mg/ml de ce produit. A signaler que le mycobacterium *africanum* est également sensible au TCH.

TECHNIQUE

On prépare des tubes de milieu Loewenstein-Jensen imprégné de 5 mcg de BSH par cm², soit 60 mcg par tube. Evaporer complètement à l'étuve. On peut également inclure 10 mcg par ml de BSH avant la coagulation du milieu. On fait un ensemencement sur un tube de BSH et un tube témoin. On peut ensemen-
cer également la suspension mère à 1 mg/ml qui, diluée, permettra la mesure de la sensibilité aux substances antibacil-
laires.

Repartir 0,2 ml de cette suspension sur la surface du milieu.

LECTURE ET INTERPRETATION

La lecture se fera 3 semaines après étuve à 37° C, si elle est précocément faite, il y aura possibilité d'erreurs. La végétation équivalente sur les deux tubes témoigne de la positivité du test. Si le tube imprégné de BSH n'a pas ou peu cultivé, le test est négatif.

A noter que la résistance à I.N.H. entraîne une résistance croisée. Si le seuil de résistance dépasse 0,5 mg, la réaction est ininterprétable.

Inversement, la résistance au BSH n'entraîne pas nécessairement la résistance à I.N.H.

RESULTATS

Le *Mycobacterium tuberculosis* est BSH positif

Le *Mycobacterium bovis* est BSH négatif, sauf que les souches sont I.N.H. résistant.

Les mycobactéries atypiques sont BSH positif.

c) Hydrolyse de l'urée :

Etudiée pour la première fois par SOHNGEN en 1913, A. TACQUET, CH. GERNEZ - RIEUX et B. GUUDIER en 1954, et surtout, R. BONICKE, W. DITTMAR et B.P. LISBOA en 1960, VIALIER et AUGAGNEUR (66) montraient que les mycobactéries à croissance rapide (*Mycobacterium smegmatis*, *mycobacterium phlei*) présentaient une activité uréasique importante.

TECHNIQUE

Une solution d'urée fraîchement préparée à 0,5 % est répartie en tube à hémostase à raison de 0,3 ml.

Ajouter la suspension de bacilles dans les tubes et mettre à l'étuve à 37° C pendant 3 heures.

Le réactif de Nessler décèle l'uréolyse en donnant une coloration jaune s'il existe des sels ammoniacaux.

PRECAUTIONS

Les bacilles doivent être soigneusement lavés et ne contenir aucune trace du milieu où ils ont poussé (Milieu Dubos).

RESULTATS

Mycobacterium tuberculosis est uréase positive

Mycobacterium bovis est uréase négative

Les mycobactéries atypiques sont uréases variables.

d) La réduction des nitrates en nitrites (VIRTANEN en 1960 BOISVERT en 1961, VIALIER, AUGAGNEUR, LANERY (65) TISON, CARBONNELLE (53).

REACTIFS

-Solution stérile de nitrate de Na.

Nitrate de Na	0,085 g
Eau distillée	100 ml

Réactifs A et B de GRIESS

A) Acide sulfanilique	0,80 g
Acide acétique	30 ml
Eau distillée	100 ml
B) Alpha naphthylamine	0,50 g
Acide acétique	30 ml
Eau distillée	100 ml

Il faut les conserver à l'obscurité pour éviter leur détérioration.

TECHNIQUE D'ETUDE

Placer 0,10 ml d'eau distillée dans un tube à hémolyse.

On prélève avec un fil de platine 10 à 15 mg de bacilles sur culture fraîche et abondante en milieu Loewenstein-Jensen.

Ajouter alors 2 ml de solution de nitrate et laisser incliner 2 heures à l'étuve à 37°C.

Ajouter ensuite 0,2 ml de réactif A et puis 0,2 ml de réactif B.

RESULTATS ET LECTURE

1- La lecture

L'apparition d'une teinte violette indique une réaction positive. Si la teinte est rose pâle, la réaction est négative.

2- Résultats

Les *Mycobacterium tuberculosis*

kansasii	positifs
fortuitum	
phlei	

Les *Mycobacterium scrofulaceum*

smegmatis	variables
chelonei	

Les *Mycobacterium bovis*

marinum	négatifs
avium	
gordonae	
xenopi	
intracellulare	
ulcerans	

Remarque :

Cette épreuve qualitative ne décèle que de fortes quantités de nitrites ; par conséquent, elle n'est positive que lorsque la souche mycobactérienne a une forte capacité réductrice.

e) Activité catalasique :

Mise en évidence par HAHN dès 1897, codifiée par MIDDLEBROOK en 1954 qui montre en plus que les mutants de *Mycobacterium tuberculosis* résistants à H.N.H. perdent leur activité catalasique et que les mycobactéries atypiques par contre possèdent une importante activité enzymatique à ce genre de réaction.

ANDREJEW, S. KWIEK, CH. GERNEZ-RIEUX (1), VIALIER et LANERY (64), TISON, CARBONNELLE (53) permettent de distinguer l'activité catalasique qu'ils énoncent en deux types : Catalase BK et catalase FB (foie de boeuf).

PRINCIPE

Certains germes possèdent le pouvoir très particulier de dégrader l'eau oxygénée en libérant l'oxygène qu'elle contient. Cette activité doit être recherchée sur des cultures jeunes et abondantes, obtenues sur milieu Loewenstein-Jensen.

REACTIFS

- 100 cc d'eau oxygénée à 30 volumes
- solution de Tween 80, à 10 ‰
- 9,5 cm³ de Tween 80

Mélanger ces deux solutions.

TECHNIQUE

On dépose à la surface du milieu 1 ml de mélange de ces solutions. Incliner le tube. Après 5 minutes de contact, un dégagement gazeux traduit que la souche est catalase positive. Mesurer la hauteur de la mousse dans le tube en position verticale.

Noter à raison d'une croix par cm de dégagement qui est apprécié soit : + ; ++ ; +++ ; ++++.

RESULTATS

Mycobacterium tuberculosis, *bovis*, espèces du groupe *avium* ont une réaction de faible intensité.

Mycobacterium bovis et *tuberculosis* I.N.H. résistant perdent leur activité catalasique.

Après chauffage, les germes ayant une catalase de type BK (*tuberculosis* et *bovis* sensibles à l'I.N.H.) perdent leur activité catalasique.

f) Estérase et Lipase :

ESTERASE

: Hydrolyse des acides gras, libération des fonctions acides et baisse du pH du milieu qui entraînent le changement de l'indicateur coloré inapproprié - NAKAYAMA et Coll., TACQUET, CARBONNELLE en 1966, TISON et CARBONNELLE (53).

TECHNIQUE

On prépare une gélose avec 20 g d'agar pour 1000ml d'eau distillée qu'on stérilise à l'autoclave.

Dissoudre au bain-marie 0,50 % en poids de Bleu Victoria B dans la tributyrine pendant 30 minutes à chaud.

1 ml de cette tributyrine colorée est ajoutée à 100 ml de gélose blanche fondue et refroidie à 55°C.

Effectuer le mélange et répartir en tubes Félix. Refroidir aussitôt dans la gélose fondante. Le milieu ainsi obtenu doit avoir une teinte mauve à pH 7,3.

Technique de la réaction

Dans le tube Félix, déposer à la surface du milieu 0,1 ml

d'une émulsion à 1/10e de mg/ml de germes à étudier.

Un témoin avec *Mycobacterium kansasii*

Un témoin négatif avec une suspension BCG.

Porter les tubes à 37°C pendant 24 heures.

Lecture et Interprétation

Un anneau bleu à la partie supérieure de la gélose indique une réaction positive, sinon la réaction est négative.

Résultats

Les *Mycobacterium kansasii*

fortuitum

smegmatis

gordonae

phlei

ont une réaction positive

Les *Mycobacterium tuberculosis*

chelonae

ont une réaction faiblement positive

Les *Mycobacterium bovis*

ulcerans

marinum

scrofulaceum

groupe aviaire

ont une réaction négative.

LIPASE

Hydrolyse des esters polymérisés solubles dans les acides gras à longues chaînes et libération de l'acide oléique et des dérivés insolubles - ANDREJEW, GERNEZ-RIEUX, KWICK (1), TISON, TACQUET, RODC, DEVULDER et COLL (51), TISON et CARBONNELLE (53).

REACTIFS

- Tampon phosphate M/15, pH 7,2	100	ml
- $\text{PO}_4 \text{Na}_2 12 \text{H}_2\text{O}$	1,717	g
- $\text{PO}_4 \text{HK}_2$	0,253	g
- Eau distillée	1000	ml
- Tween 80	0,5	ml
- Rouge neutre 1 mg/ml	2	ml

TECHNIQUE

Mettre 4 ml de cette solution dans des tubes à vis de 80/12.
Bien visser et porter à l'autoclave pendant 15 minutes à 120° C.

Déposer en émulsionnant 10 mg d'une culture jeune à l'oeuf.
Mettre à l'étuve à 37° C.

Examiner chaque jour pendant une période de 10 jours.

RESULTATS

Mycobacterium	kansasii	
	gordonae	
	marinum	hydrolysent le Tween
	smegmatis	
	chelonae	
Mycobacterium	tuberculosis	
	bovis	
	ECG	n'hydrolysent pas le Tween
	scrofulaceum	
	groupe avium	

Mycobacterium fortuitum a une réaction variable selon la souche.

g) Réduction des nitrites et nitrates en surface,
TISON - CARBONNELLE (53)

PRINCIPE

C'est une propriété qu'ont certaines mycobactéries à transformer les nitrates introduits deux heures auparavant dans un milieu nitrifié. La mise en évidence de l'épreuve est faite par une réaction colorée.

PREPARATION DU MILIEU

- Solution de nitrate de Na

- Nitrate de Na 3 g
- Eau distillée 100 ml.

Stériliser à l'autoclave.

- Solution de nitrite de Na

- Solution de nitrite de Na 1,2g
- Eau distillée 100 ml.

Stériliser par filtration. Au moment de l'utilisation, il faut diluer la solution mère au 1/10.

Répartir 0,2 ml de chacune de ces préparations sur toute la surface du milieu de Loewenstein - Jensen. On obtient ainsi les concentrations suivantes :

- Nitrate 0,5 mg par cm carré
- Nitrite 20 microgrammes par cm carré.

On laisse pendant 24 heures évaporer en position horizontale à une température de 37°C. Capuchonner les tubes et stocker à 4°C.

Les souches à étudier sont ensemencées sur toute la surface du milieu (0,2 ml d'une solution à 1mg/ml). Après végétation abondante, les nitrites sont recherchés par l'addition de 0,3 ml des deux réactifs de Griess vus antérieurement.

Il faut accompagner chaque étude d'une gamme témoin imprégnée de nitrates et de nitrites, et la placer dans les mêmes milieux à 37°C.

Il existe :

- des souches positives réduisant les nitrates et les nitrites
- des souches réduisant les nitrates seulement.

INTERPRETATION

Une teinte rouge des tubes avec nitrates indique qu'il y a eu formation de nitrites. La réaction est positive. Il faut savoir qu'avant tout ensemencement, la réaction de Griess est positive dans les tubes de nitrites.

Si après végétation, la réaction est négative, c'est que les nitrites ont été réduits. Le test est positif.

En milieu solide

Espèce mycobactérienne	Réaction de GRIESS		Réaction des Nitrates et des Nitrites	
	Nitrates	Nitrites	Nitrates	Nitrites
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	+	+	+	O
<i>Mycobacterium bovis</i>	O	+	O	O
<i>Mycobacterium du type vium</i>	O	O	+	+

La réaction de GRIESS positive ne veut pas dire nécessairement réduction des nitrates et nitrites. Il faut bien préciser ce que l'on indique dans la réponse.

- h) Transformation de citrate de fer ammoniacal par TACQUET, TISON, DEVULDER, TISON et CARBONNELLE (53).

REACTIFS :

Une solution de citrate de fer ammoniacal stérile est dissoute dans l'eau distillée, à raison de 40 mg/ml.

ETUDE ET TECHNIQUE

Au fond du tube de Loewenstein-Jensen ou de Coletsos, déposer 1 ml de cette solution et maintenir celui-ci verticalement.

La diffusion donnera ainsi une concentration décroissante de citrate de bas en haut au sein du milieu.

Procéder à l'ensemencement de la souche à forte concentration, le tube étant toujours en position verticale avec une émulsion de germes à 1mg/ml. On peut également utiliser une culture sur milieu Dubos. , Laisser couler 1 goutte sur le milieu à partir du haut de la surface utile. Le tube sera ensuite placé à l'étuve.

LECTURE :

Pour être valable, elle se fait dès que la végétation est suffisamment développée et abondante.

Une coloration normale indique que la réaction est négative.

Une teinte brune est témoin de la réaction positive (CFA +).

Résultats :

Mycobacterium tuberculosis

bovis

marinum

scrofulaceum

gordonae

groupe aviaire

Mycobacterium ulcerans.

CFA négatif

Mycobacterium smegmatis

fortuitum

chelonei

phlei

CFA positif

CARBONNELLE-TISON

Espèces mycobactériennes	Croissance	Pigmentation	Catalase		Tributyryne Estérase	Lipase en Twinn 80	Réduction des Nitrates	Réduction des Nitrites	C. F. A.
			T °C normale	70° C					
Tuberculosis I N H sensible I N H résistant Bovis I N H sensible I N H résistant	Lente	absent	+	-	+	-	+	-	-
	Lente	absent	-	-	-	-	-	-	-
	Lente	absent	+	-	-	-	-	-	-
	Lente	absent	-	-	-	-	-	-	-
Groupe I Kansasii Marinum	Lente rapide	photo photo	++ ++	++ ++	+	+	+	+	+
Groupe II Gordonae Scrofulaceum	Lente Lente	scoto scoto	++ ++	++ ++	+	+	+	+	+
Groupe III Avium Xenopi Intracellulare Ulcérans	Lente Lente Lente Lente	absent absent absent absent	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	+	+	+	+	+
Groupe IV Fortuitum Phlei Smegmatis Chelonae	rapide rapide rapide rapide		++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	+	+	+	+	+

i) Activité amidasique des mycobactéries :

Etude précisée par BONICKE en 1959 ; technique qui a été améliorée par l'Institut Pasteur de Lille par TACQUET, TISON, ROOS, DEVULDER, TISON-CARBONNELLE (53), de façon à permettre une détermination qualitative simplifiée par culture sur milieu gélosé et glycérimé, enrichi après autoclavage avec des solutions d'amides.

L'activité amidasique se traduit par un dégagement d'ammoniac avec une coloration bleu vert après adjonction du réactif de Russel . 10 espèces d'amides sont utilisées.

1) Acétamide	9,67 mg
2) Benzamide	19,83 mg
3) Urée	9,83 mg
4) Isonicotamide	19,99 mg
5) Nicotinamide	19,99 mg
6) Pyrazinamide	20,16 mg
7) Salicylamide	22,45 mg
8) Allantoïne	25,89 mg
9) Succinamide	19,00 mg
10) Malonamide	16,71 mg.

Ces amides sont dissoutes chacune dans 10 ml d'eau distillée par chauffage au bain-marie à une température de 80° C pendant 30 minutes.

1°) Les solutions mères subissent elles-mêmes une dilution au 1/10ème avec de l'eau distillée stérile.

2°) Solution de sulfate de manganèse à 0,003 M (qui doit être gardée à 4°C pour éviter la détérioration).

- Sulfate de manganèse H_2O	133,8 mg
- Eau distillée	200 ml

3°) Réactif phénolique

Placer dans une éprouvette de 100 ml 27,4 ml de phénol liquide.

Dissoudre 10,8 g de soude en pastilles dans 20 ml d'eau distillée, faite dans un bécher.

Ajouter de la soude au phénol et compléter la solution à 100 ml avec de l'eau distillée.

4°) Solution d'hypochlorite.

Dissoudre 5 g de chaux chlorée dans 60 ml d'eau distillée chaude.

Dans un deuxième récipient, préparer une solution de carbonate de K à 20 %, soit pour la préparation de 100 ml de solution d'hypochlorite, dissoudre 6 g de carbonate de K dans 30 ml d'eau distillée.

Mélanger alors les deux solutions en agitant. Chauffer jusqu'à ébullition pour faire disparaître toute trace d'ammoniacale. Compléter à 100 ml par addition d'eau distillée.

Filtrer et conserver à l'abri de la lumière dans des flacons colorés à une température de 4°C.

5°) Préparation de la solution tampon.

Tampon phosphaté 1/5 M pH 7,2.

- Phosphate monopotassique	1,0064 g
- Phosphate dissodique	4,5108 g
- Eau distillée	1000 . ml

Porter les solutions à l'autoclave à 115° C pendant 10 minutes dans des flacons dépourvus de Na.

6°) Préparation d'une gamme de témoins contenant de l'ammoniaque à 10, 3, 2 et 1 mcg de NH_3 /ml.

- 1 ml d'une solution d'ammoniaque à 25 %
+ 9 ml de tampon phosphaté à pH 7,2 (solution n°1)
- 1 ml de solution précédente
+ 9 ml de tampon (solution n°2)
- 0,8 ml de solution n°2
+ 19,2 ml de tampon (solution n°3)
= 10 mcg/ml
- 5 ml de solution n° 3
+ 5 ml de tampon - 5 mcg/ml
- 3 ml de solution n° 3
+ 7 ml de tampon - 3 mcg/ml
- 2 ml de solution n° 3
+ 8 ml de tampon - 2 mcg/ml
- 1 ml de la solution n° 3
+ 9 ml de tampon - 1 mcg

1 ml de chaque solution est introduit dans des tubes. On ajoute 0,1 ml de solution de sulfate de manganèse plus 1 ml de réactif phénolique plus 0,5.

Chauffer ensuite les tubes pendant 15 minutes à 100°C.

TECHNIQUE D'ETUDE DE LA REACTION

La préparation de la suspension microbienne se fait sur deux tubes de milieu Loewenstein ayant cultivé abondamment. A la spatule de platine, prélever 60 mg de la souche à tester.

Mettre ces germes dans un pot à centrifuger stérile, préalablement taré. Par pesée soignée, on détermine la quantité de germes prélevés.

Remplir ensuite de tampon phosphate 1/15 M pH 7,2 le pot à centrifuger. Centrifuger puis décanter.

Ajouter quelques billes de verre stériles et remettre le culot en suspension en tampon phosphate.

REMARQUE :

La quantité de solution tampon à ajouter sera en fonction du poids de germes initialement placé dans le tube et sera calculée de telle façon que la concentration terminale de la suspension à étudier soit de 10 mcg/ml.

Préparation des tubes tests et des tubes témoins pour la réaction.

Par souche étudiée, préparer 10 tubes contenant 0,5 ml de la solution de chaque amide et 1 tube témoin ne contenant pas d'amides, où on introduira 0,5 ml de tampon phosphate 1/15 M pH 7,2.

Pour chaque tube, avec ou sans amide, on mettra 0,5 ml de la suspension microbienne à 10 mcg/ml.

Pour la série de souches étudiées, prévoir une gamme de témoins amides qui recevront 0,5 ml de chaque solution amide et 0,5 ml de tampon phosphate ou réaliser 1 témoin tampon : 1 ml de tampon.

Porter à l'étuve à 37°C pendant 18 heures. Ajouter ensuite à chaque tube :

- | | |
|---------------------------|---------|
| - Sulfate de manganèse | 0,1 ml |
| - Réactif phénolique | 1 ml |
| - Solution d'hypochlorite | 0,5 ml. |

Agiter les tubes et chauffer pendant 20 minutes à 100°C, puis centrifuger.

L'étude de la coloration après refroidissement se fait au spectrophotomètre à 630 mμ. Le témoin sert de point 0.

Sont considérées comme positives, les colorations ayant une densité optique supérieure ou égale à celle obtenue avec le témoin ammoniacal titrant 1 mcg/ml. Une réaction positive dans un tube témoin fait perdre la valeur du test pour l'amide considéré.

ACTIVITE AMIDASIQUE DES MYCOBACTERIES (TISON-CAR-BONNELLE)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	ACETAMIDE	BENZAMIDE	UREE	ISONICOTINAMIDE	NICOTINAMIDE	LYRAZINAMIDE	SALICYLAMIDE	ALLANTINE	SCITINAMIDE	MALONAMIDE
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>			++		++	++				
<i>Mycobacterium bovis</i>			++							
<i>Mycobacterium kansasii</i>			++		++					
<i>Mycobacterium marinum</i>			++		++	++				
<i>Mycobacterium gordanae I</i>			++							
<i>Mycobacterium gordanae II</i>										
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>			++		++	++				
<i>Mycobacterium avium</i>					++	++				
<i>Mycobacterium xenopi</i>					++	++				
<i>Mycobacterium intracellulare</i>					++	++				
<i>Mycobacterium ulcerans</i>										
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	++		++		+	-		++		
<i>Mycobacterium phlei</i>			++		++	++				
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	+	++	++	++	++	++	+	+	+	
<i>Mycobacterium chelonae</i>	++		++		++	++				

1 croix indique une réaction faible
2 croix indiquent une réaction forte

j) Etude de l'utilisation des hydrates de carbone
par les Mycobactéries.

Cette technique est rarement utilisée pour l'identification des Mycobactéries, quoique étudiée systématiquement par le Japonais TSUKAMURA, TISON - CARBONNELLE (53), dans un but taxinomique.

TECHNIQUE

Préparation d'un milieu pH 7

- Chlorure de sodium	0,50 g
- Sulfate d'ammonium	0,50 g
- Sulfate de magnésie	0,50 g
- Phosphate monopotassique	0,040g
- Phosphate dipotassique	0,160g
- Bacto-agar	1,50 g
- Bromocrésol pourpre à 0,04 %	1,50 g
- Eau distillée	100 ml.

Ajouter 0,5 ml de solution stérile à 10 % de sucre à étudier, stériliser par filtration. Le milieu est ensuite refroidi et incliné. Il doit être bleu.

Répartir sur la surface du milieu 0,1 ml d'une émulsion à 1 mg/ml de germe qu'on recherche ; porter à l'étuve à une température appropriée.

La lecture tient compte :

de la présence ou de l'absence de végétation, ce qui indique la possibilité de l'utilisation du sucre ajouté par la mycobactérie. Le virage au jaune indique que le sucre a été utilisé.

C'est sur cette base que GORDON et MIHN ont, dès 1959, pu identifier le *Mycobacterium phlei*, *fortuitum* et *smegmatis*. Cette technique est également intéressante pour le *Mycobacterium gordonae* I et II (I fermente beaucoup de sucres, l'autre n'a pas d'activité fermentative).

RESULTATS SELON CORDON & MIHN

<i>Espèce de sucre</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>	<i>Mycobacterium fortuitum</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Arabinose</i>	+	+	-
<i>Dulcitolose</i>	-	+	-
<i>Glucose</i>	+	+	+
<i>Galactose</i>	+ ou -	+	+
<i>Inositol</i>	-	+	-
<i>Lactose</i>	-	-	-
<i>Mannitol</i>	+	+	+ ou -
<i>Mannose</i>	+	+	+
<i>Rhamnose</i>	-	+	-
<i>Raffinose</i>	-	-	-
<i>Sorbitol</i>	+	+	-
<i>Trehatose</i>	+ ou -	+	+
<i>Xylose</i>	+ ou -	+	-

- Négatif.

k - Recherche d'activité arylsulfatique :

Cette étude est due à WHITEHEAD en 1953, TISON-CARBONNELLE (53), qui montre l'activité des mycobactéries sur le sel d'acide arylsulfurique, sa capacité de l'hydrolyser et de libérer un composé phénolique.

TECHNIQUE

D'une culture sur milieu à l'oeuf, mieux encore sur milieu de Tarschis (Tween Niancin Médiatest), prélever une grosse anse de colonies.

Pratiquer une émulsion dans 0,2 ml de sulfate de phénol phtaléine tripotassique 0,001 M filtré sur bougie. Ensuite, introduire en tube stérile bouché et porter à une température de 37°C pendant 24 heures. 1 goutte de bicarbonate de Na 1 M est ajoutée au tube pour révéler la réaction.

L'apparition d'une couleur rose rouge révèle une réaction positive.

RESULTATS

<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
<i>Mycobacterium bovis</i>	
<i>Mycobacterium avium</i>	ont une activité arylsulfate positive
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	
<i>Mycobacterium phlei</i>	
<i>Mycobacterium kansasii</i>	
<i>Mycobacterium marinum</i>	
<i>Mycobacterium gordonae</i>	le sont faiblement
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	
<i>Mycobacterium xenopi</i>	
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	ont une réaction négative.
<i>Mycobacterium chelonae</i>	

I - Recherche de phosphates acides :

L'étude a été faite par des auteurs japonais par ANDREJEW et par TISON-CARBONNELLE (53). Les phosphatases acides sont des phospho-mono-estérases qui libèrent de l'acide phosphorique à partir des divers substrats. (sucres phosphorylés).

TECHNIQUE DE RECHERCHE

REACTIFS

Comprimés WARNER et CHILCOTT destinés à la détermination de la phosphatase acide du sérum.

REACTION

Dans un tube à hémolyse, introduire 0,5 ml de suspension contenant 1 mg de mycobactéries / ml.

Ecraser un comprimé de substrat. Incuber à 37°C pendant 20 minutes. Ajouter ensuite 1 comprimé de révélateur (orthodianizidite bisdiazotée). La lecture est faite 3 minutes après.

Une teinte rose pâle est témoin d'une réaction négative.

Une teinte rouge indique une réaction positive.

RESULTATS

Mycobacterium tuberculosis

"	BCG	sont phosphates négatifs
"	avium	

Mycobacterium marinum

sont phosphates positifs.

Mycobacterium fortuitum

m - Mise en évidence de peroxydase

Décomposition par les mycobactéries de l'eau oxygénée, et l'oxygène libéré oxyde un donneur d'hydrogène, TISON CARBONNELLE (53).



Sur une culture de mycobactéries, on ajoute H_2O_2 et un accepteur d'oxygène qui peut être la Benzédrine, pyrogallol ou catéchol.

RECHERCHE DU POUVOIR PEROXYDASIQUE

On utilise 2 méthodes à cause de la différence de sensibilité des mycobactéries :

METHODE A LA BENZEDRINE

Se fait sur milieu de culture jeune et abondante de Loewenstein - Jensen.

REACTIFS

- Solution de Benzédrine à 1 % dans l'acide acétique normal (6 %)
- H_2O_2 à 1 % (0,5 ml à 110 volumes ajouté à 14,5 ml d'eau distillée).

TECHNIQUE

0,5 ml de chaque réactif est déposé à la surface des tubes et incliné verticalement. Le mélange extemporané de deux réactifs au tube de culture est possible. Le lecture est faite après 10 minutes de contact.

Les colonies bleu noires sont peroxydase positive

Les colonies inchangées sont peroxydase négative

METHODE AU CATECHOL A pH 4

- | | |
|-----------------------------|-------|
| - Tampon acétate 0,2 M pH 4 | 50 ml |
| - Catéchol à 2 ‰ dans l'eau | 10 ml |
| - Eau oxygénée à 1 ‰ | 5 ml. |

TECHNIQUE

1 ml de mélange extemporané de trois réactifs est mis à la surface des tubes.

La culture pousse après 24 heures de contact. Les colonies de couleur noire sont peroxydase positive tandis que les colonies n'ayant pas changé sont peroxydase négative.

n - Transformation du paranitrophenol :

TACQUET et Coll en 1961, TISON et CARBONNELLE (53).
Technique pour différencier les mycobactéries des nocardia.

TECHNIQUE

Les mycobactéries sontensemencées sur 5 ml de milieu liquide de Dubos mélangé ou pas de Tween 80. Adjoindre à la culture 50 mcg par ml d'une solution stérile de paranitrophénol. Ajouter 0,1 ml d'une suspension de germes à 1 mg par ml.

Incuber ensuite à 37 ° C et examiner quotidiennement.

Une couleur brun - roux est témoin de *Nocardia pella-grino* ou *Nocardia ostéroïde*.

Les mycobactéries donnent une réaction négative.

o - Recherche de la β D-galactosidase :

La plupart des mycobactéries ne peuvent pas scinder le lactose pour donner les deux oses qu'il contient : glucose et galactose. Cependant quelques souches arrivent à le faire selon les travaux effectués par TAQUET, TISON, POLSPOEL, ROOS et DEVULDER (50), TISON-CARBONNELLE (53).

MATERIEL ET TECHNIQUE

La mise en évidence peut être réalisée par la technique à O.N.P.G. (ortho-nitro-phénol Bêta D-galactopyranoside).

REACTIFS

Ils demandent une solution tampon phosphate pH 7.

Dissoudre 6,9 g de $\text{Po 4 H}_2 \text{Na H}_2\text{O}$ dans 45 ml d'eau distillée.

Ajuster cette solution à pH 7 avec de la lessive de soude.

Poursuivre la manipulation en ajoutant jusqu'à 50 ml avec l'eau distillée et conserver à 4°C.

Faire une solution de O.N.P.G. M/75 en dissolvant 80 mg d'ONPG dans 15 ml d'eau distillée à 50°C.

Refroidir, ajouter après 5 ml de la solution tamponnée. Conserver le mélange à + 4°C. Il doit être homogène.

Avant l'utilisation, le mélange doit être mis à 37°C pour éviter la cristallisation du phosphate.

REACTION

Des colonies mycobactériennes sont prélevées en phase logarithmique de croissance sur une culture en milieu Loewenstein - Jensen avec une grosse anse (15 mg) et déposées dans 0,25 ml d'eau distillée stérile. Emulsionner le tout. Agiter avec 0,05 ml de toluène et porter à une température de 37°C pendant 10 minutes.

Ajouter après 0,25 ml de solution d'O.N.P.G. et reporter toujours à 37° C pendant 24 heures.

L'apparition d'une teinte jaune traduit une réaction positive, plus ou moins forte selon la teinte.

RESULTATS

Mycobacterium phlei

"	smegmatis	sont } galactosidase positive.
"	fortuitum	
"	chelonei	

p) Autres méthodes - Etude de la thermo-résistance - TISON et CARBONNELLE (53).

Cette étude s'effectue classiquement à une température de 60°C pendant 24 heures, et consiste à réaliser à partir de la souche à étudier, une émulsion à 1 mg par ml dans l'eau distillée.

Sceller 2 ml de l'émulsion dans des ampoules stériles. Une ampoule témoin est conservée. Plonger les autres dans un bain-marie thermostatique réglé à une température convenable.

Après 24 heures, les ampoules sont ouvertes et ensemencées sur milieu Loewenstein - Jensen et de COLETSOS à des solutions croissantes 10^{-3} , 10^{-5} .

On fait une numération et on apprécie la proportion des germes détruits par la chaleur.

RESULTATS

De nombreux germes sont thermo sensibles à 60°C.

Le Mycobacterium phlei est thermo-résistant.

Etude de la température minima de croissance, TISON et CARBONNELLE (53).

Cette étude consiste à obtenir des cultures sur milieu solide qui sont incubées à des températures variables. Mais cette étude est imparfaite pour ce qui concerne la température optima de végétation.

Par contre, les courbes de croissance établies en milieu liquide donnent des renseignements utiles pour la caractérisation de l'espèce.

TECHNIQUE

Des ballons de volume égal contenant une quantité égale de milieu Dubos associé à 500 mg de Tween 80 titré.

Ensemencer le même inoculum de la souche à étudier à raison de 0,5 ml d'une culture en milieu liquide pour un ballon contenant 150 ml d'acide malique.

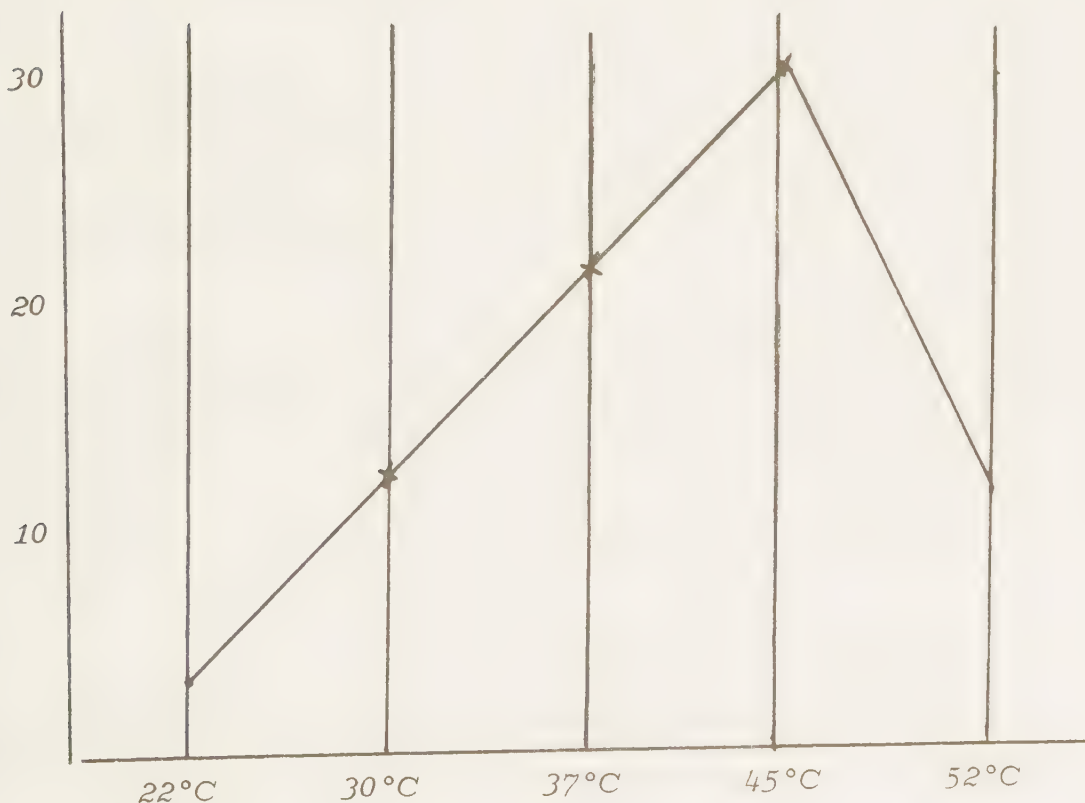
Passer les ballons à différentes températures, soit à 20°C, 30°C, 37°C, 45°C et 52°C.

Prélever chaque jour 3 ml de culture, après agitation soigneuse. La densité optique doit être mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 650 nanomètres.

On effectue ensuite une courbe qui aura en abscisse le temps d'incubation en jours, et en ordonnée la densité optique.

Pour obtenir de bons résultats, il est souhaitable de mélanger l'inoculum à la totalité des milieux avant d'opérer la répartition sur des ballons.

Exemple :



Optimum de croissance au 14^e jour de Mycobacterium xenopi selon la température.

3°) SENSIBILITE DES MYCOBACTERIES AUX MYCO-BACTERIOPHAGES

L'étude de cette possibilité constitue un dernier moyen d'identification et de classification de certaines mycobactéries.

Cette technique est due à HERELLE qui l'a découverte le premier, et en 1947, GARDNER et WELSER isolent le premier phage actif sur le *Mycobacterium smegmatis*.

FROMAN en 1954 annonce celui actif sur le *Mycobacterium tuberculosis*.

L'isolement au début se faisait à partir du sol, et c'est d'après les travaux de MANKIEWICZ que celui-ci se fait au niveau des matières fécales des malades tuberculeux. Cette découverte fut confirmée en 1963 par CATER et REDMOND qui décrivent 50 souches phagiques différentes parmi lesquelles deux souches sont spécifiques pour le *Mycobacterium tuberculosis* et phlei.

REDMOND dans la même année, donne une classification au moyen de 3 phages qui lui permirent d'identifier les mycobacterium fréquemment rencontrés en cliniques, le *Mycobacterium tuberculosis*, *bovis* et *kansasii*.

Ainsi, il existe des phages spécifiques pour certaines espèces (*Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium phlei*), d'autres bactériophages ont un spectre d'action plus large pour permettre une systématisation valable des différentes espèces mycobactériennes. Une différence d'absorption du phage par les mycobactéries peut se voir au sein d'une même espèce.

A savoir que des souches presque là sensibles aux mycobactériophages peuvent devenir lysogènes et acquérir une résistance totale à l'action lytique du phage.

C - METHODES INDIRECTES

1°) MISE EN EVIDENCE D'ANTICORPS CIRCULANTS :

a - Les réactions d'agglutination :

L'étude a été faite par SCHAEFFER. Cet auteur utilisant cette technique a différencié dès 1935 deux types différents de bacilles aviaires. Il démontre en 1965 que la réaction d'agglutination est une méthode susceptible de permettre une identification **rapide** du *Mycobacterium kansasii*, *avium* et *balnei*.

En 1967, il montre l'intérêt de cette technique dans les recherches épidémiologiques en individualisant au sein du groupe *avium* 15 sérotypes différents. On sait aujourd'hui que la réaction d'absorption d'agglutination complète celle-ci, comme le montrait REGGIARDO en 1964. Elle permet l'identité de deux types et autorise en même temps l'étude difficilement dissociable fréquente chez les mycobactéries.

TECHNIQUE

Par P. HAUDUROY, A. HOVANESSIAN et
F. BAEL (26).

Ensemencer sur des tubes de gélose Middlebrook albumine et acide oléique des cultures obtenues sur milieu de Loewenstein. Maintenir pendant 2 à 3 semaines ceux-ci à 37° C.

Ajouter sur les cultures bien développées et à chaque tube 5 ml d'un tampon phosphaté salin (pH : 7,0) contenant 0,5 % de phénol.

Emulsionner soigneusement et ajuster l'opacité de la suspension avec celle d'une émulsion BCG ramenée à 1 mg/ml.

Diluer à ce moment là le sérum agglutinant à 1/80 avec un tampon phosphaté.

Répartir 0,5 ml en tube de 12 x 75 mm et ajouter à chaque tube une quantité égale d'émulsion bactérienne.

Porter à l'étuve à 37° C et effectuer la lecture après 3, 10 et 24 heures.

Il faut comparer avec un témoin d'émulsion sans sérum agglutinant placé dans les mêmes conditions.

RESULTATS

Si toutes les bactéries se sont sédimentées au fond du tube avec un surnageant tout à fait clair, la réaction est +++.

b - Réaction d'immunofluorescence :

Nous devons cette méthode précieuse à JONES et KUBICA en 1935 qui montrait que les immunsérums spécifiques marqués par la fluorescéine permettraient, s'ils étaient employés à des dilutions convenables l'identification rapide de mycobactéries.

JONES préconise l'immunofluorescence indirecte, CHOI préfère une technique d'immunofluorescence anticomplément.

JONES, SAITO, KUBICA (28), CHOI C.S., ROYAL W.A. FRANCIS John (11) ont mis au point les techniques que nous développons ci-après.

LES CULTURES

Les cultures utilisées dans cette étude ont été, soit des souches stock maintenues dans les collections des laboratoires Branch du Centre des maladies transmissibles (CMT) soit des souches sauvages de mycobactéries soumises à ce laboratoire pour typage.

PREPARATION DES ANTISERUMS :

A partir d'une culture sur milieu Middlebrook 7 H-9 (DIFCO) d'une pousse de 7 à 10 jours. Le liquide est centrifugé à 3 000 tours minute pendant 15 minutes et répandu en eau physiologique stérile.

On ajuste la suspension bactérienne à une densité optique de 0,1 (625 m μ) dans un spectrophomètre de Cdeman, ce qui donne approximativement 10^{-7} unités viables par ml, lorsque celles-ci sont inoculées sur un milieu de culture solide Bacto-Middlebrook 7 H 10 agar.

Après une semaine d'intervalle, des inoculum fraîchement préparés sont injectés par voie I.V. chez le lapin pesant 5 et 7 livres à des doses croissantes à 0,1 - 0,3 - 0,6 et 1 ml.

On récolte le sérum par saignée si les titres d'agglutination sont 1/1280 ou plus grand à 5 jours après la 4ème injection.

On prépare et on marque les antisérums à l'isocyanate de fluorescéine comme pour la technique décrite par CHERRY et ses collaborateurs.

On titre chaque antiglobuline contre son antigène homologue et on utilise dans la dilution la plus haute qui donne la plus grande fluorescence.

On marque la globuline normale de lapin de la même façon; qui sera utilisée comme témoin et elle doit avoir la même dilution que celle utilisée pour le conjugué spécifique.

PREPARATION DES FROTTIS

Deux méthodes :

1 - Méthode directe

. Préparation des frottis :

Les cultures qui ont été colorées par la méthode directe poussent sur des milieux de Loewenstein - Jensen. On émulsionne une petite quantité de ces cultures dans 1 ou 2 ml d'eau distillée stérile. Au moyen d'une oëse de 3 mm de diamètre on dépose 1 goutte de cette suspension au centre de deux cercles gravés sur des lames pour préparations microscopiques spéciales (Aloe Scientific). On chauffe les frottis fixés sur une plaque chauffante à 65°C pendant 2 heures.

. Coloration des frottis :

1°) 1 goutte de conjugué spécifique est placée sur la droite. 1 goutte témoin est placée à gauche. Deux applicateurs en bois sont utilisés pour étaler les gouttes de conjugué d'une façon homogène sur leur frottis respectif, en faisant attention de ne pas abîmer le frottis.

2°) Sur papier humide, on place les lames qui sont ensuite couvertes avec le couvercle d'une boîte de Pétri de 15 cm de diamètre (6 inch) formant ainsi une chambre humide pour incubation.

3°) Les lames sont incubées dans la chambre humide pendant 30 minutes à 37°C.

4°) Les lames sont enlevées de l'incubateur et rincées dans de l'eau

physiologique tamponnée (pH 7,2) pour enlever l'excès de conjugué. Elles sont lavées ensuite dans de l'eau physiologique tamponnée pendant 10 minutes, puis dans de l'eau distillée (pH 7,2) pour enlever les cristaux des lames.

5°) Sécher soigneusement les lames.

6°) 1 goutte de glycérine tamponnée (pH 9) est déposée sur chacun des frottis et couverte avec une lamelle.

2 - Méthode indirecte

. Préparation des frottis :

Les cultures qui doivent être colorées sont mises en culture dans le milieu de Middlebrook 7 H-9 (DIFCO) liquide. Une oëse de platine de 3 mm de diamètre d'une culture franche de 7 jours est placée au centre de chacun des cercles marqués sur les lames.

Les frottis sont fixés sur plaque chauffante à 65°C pendant 2 heures.

. Coloration des frottis :

1°) 1 goutte convenablement diluée d'antisérum non marqué est placée à droite. 1 goutte témoin avec un sérum normal non marqué, à la même dilution que l'antigène est placée à gauche. Le sérum est étalé au-dessus des frottis de la même manière que pour le 1° de la méthode directe.

2°) Les lames sont alors traitées de la même façon que celles décrites plus haut 2° et 5° de la méthode directe.

3°) 1 goutte de globuline de chèvre anti-lapin diluée marquée (conjugué) est placée et étalée uniformément sur le centre des frottis.

4°) On traite alors les lames de la même façon que celles décrites pour la méthode directe 1° au 6°.

Examen des lames

Se fait au microscope monoculaire LEITZ SM équipé d'une lampe H B 200 L 1. Le système de lentilles utilisées comprend un oculaire 12-5 et un objectif à immersion 95 équipé d'un diaphragme iris. Les filtres utilisés sont, un filtre principal BG 22 -(un filtre rouge absorbant BG 38 et un filtre absorbant la chaleur BG 22 sont utilisés entre le filtre principal et la lampe de mercure) et un deuxième filtre oculaire OG 1. L'intensité de la fluorescence est jugée de $\frac{+}{-}$ douteux) à 4 + fluorescence maximale.

Au cours des investigations un certain nombre de techniques différentes ont été utilisées pour la fixation des frottis dans de meilleures conditions pour permettre une meilleure fluorescence. Parmi ces méthodes testées : alcool de 75 % à 95 % à la température de la pièce, acétone à -20°C , chauffage électrique de la pièce à 65°C pendant 2 heures et chauffage direct du frottis dans la flamme d'un bec Bunsen.

Résultats : Ils sont exprimés en croix de 1 à 4.

TABLEAU I

Coloration du *M. tuberculosis*, *M. kansasii* et *M. phlei* par la technique directe des anticorps fluorescents (JONES, SAITO, KUBICA).

Nombre de cultures testées	Conjugué Antiglobulines de lapin marquées		
	<i>M. tuberculosis</i> dilué 1/10	<i>M. Kansasii</i> dilué 1/32	<i>M. Phlei</i> dilué 1/32
<i>M. tuberculosis</i> 40 souches	3à4 +	+ -	+ -
<i>M. kansasii</i> 40 souches	+ -	4 +	+ -
<i>M. phlei</i> 16 souches	+ -	+ -	4 +

TABLEAU II

Coloration de *M. tuberculosis*, *M. kansasii* et *M. phlei* par la technique indirecte des anticorps fluorescents (JONES, SAITO, KUBICA).

Nombre des cultures testées	Dilution d'anti-sérum non marqué		
	<i>M. tuberculosis</i> 1/640	<i>M. kansasii</i> 1/1, 280	<i>M. phlei</i> 1/1, 280
<i>M. tuberculosis</i> (40 souches)	3, à 4 +	+ -	+ -
<i>M. kansasii</i> (40 souches)	+ -	4 +	+ -
<i>M. phlei</i> (16 souches)	+ -	+ -	4 +

TABLEAU III

Réaction des souches colorées de *M. avium* et du Groupe III non photochromogène utilisant la technique indirecte des anticorps fluorescents (JONES, SAITO, KUBICA).

Nombre de cultures testées		anti sérum <i>avium</i>		anti sérum de groupe III non photochromogène.					
		I	II	III	I	II	II a	III	III a
Avium		+++++	+	+	+	+	+	+	+
Nom photochromogène I		1-2+	+	+	4+	+	+	+	+
" II		2-3+	+	+	1+	+	4+	+	+
" III		2+	+	+	+	1+	1+	4+	+
" IV		1-2+	+	+	+	+	+	4+	1-2+
" IV a		1-2+	+	+	+	+	+	+	4+

L'identification des mycobactéries par la méthode d'immunofluorescence a donné de meilleurs résultats, à l'examen des frottis intacts préparés des cultures pures de mycobactéries, qu'à l'examen dans les crachats. Ainsi le *Mycobacterium tuberculosis*, *avium*, *intracellulare* et *fortuitum* peuvent être identifiés en utilisant des sérums de référence de chaque espèce. Comme pour les autres méthodes sérologiques, il existe peu de différence entre *Mycobacterium tuberculosis* et *bovis*.

Pour ce qui concerne les réactions croisées, des erreurs sont évitées en utilisant des dilutions adéquates d'antisérum antigène comme on le trouve dans le tableau I et II. Pour le *Mycobacterium avium* et des mycobactéries du groupe III, ils ont constitué un problème et des recherches plus poussées sont nécessaires quant à ces deux groupes.

Une autre application serait la mise en évidence des mycobactéries dans les tissus formolés, ce qui permettrait de poser le diagnostic rétrospectif dans le cas où celui-ci est mis en doute ou lorsque les germes n'ont jamais été cultivés.

Cette méthode a cependant des inconvénients. Elle sert de typage sérologique des souches isolées, mais ne permet pas l'identification des mycobactéries au **premier** abord, par conséquent ne remplace pas les autres méthodes d'identification.

c - Réaction de fixation du complément :

En 1903, BORDET et GENGOU ont montré que la réaction du complément permet la mise en évidence d'anticorps dans le sérum d'animaux inoculés expérimentalement par les bacilles tuberculeux.

A partir de ces résultats on est arrivé à étudier des anticorps expérimentaux et des sérums humains des sujets atteints par le bacille de Koch, mais aussi à préciser les diverses méthodes de préparation des antigènes (CALMETTE- MASOL-BEDSREDKA-

BOCQUET et NEGRE).

Quelques années après, en 1920 et 1922 les mêmes auteurs, puis URBAIN avaient déjà montré que les bacilles aviaires et différents bacilles paratuberculeux fixent les anticorps contenus dans les sérums d'animaux infectés par les bacilles tuberculeux humains, mais à des taux inférieurs à ceux obtenus avec les extraits de bacilles de Koch.

TACQUET, TISON, DEBRUNYE et DUBAR (49) identifient les mycobactéries y compris les souches auto-agglutinables, SCHAEFFER 1965 propose une nouvelle méthode de préparation antigénique pour l'obtention d'immunsérum susceptible d'être appliqué au diagnostic des différents sérotypes mycobactériens.

La pratique de ces techniques sérologiques montre que de nombreuses souches auto-agglutinables ne peuvent être typées par la méthode d'agglutination, d'où l'étude d'identification par la méthode de fixation du complément.

TECHNIQUE

a) Préparation de l'immunsérum

1°) Préparation de l'antigène

La souche à étudier est cultivée sur milieu de Dubos contenant 500mg de Tween par litre jusqu'à l'obtention d'une culture homogène, on centrifuge, et le culot est lavé 2 fois à l'eau salée à 8,5 p. 1000.

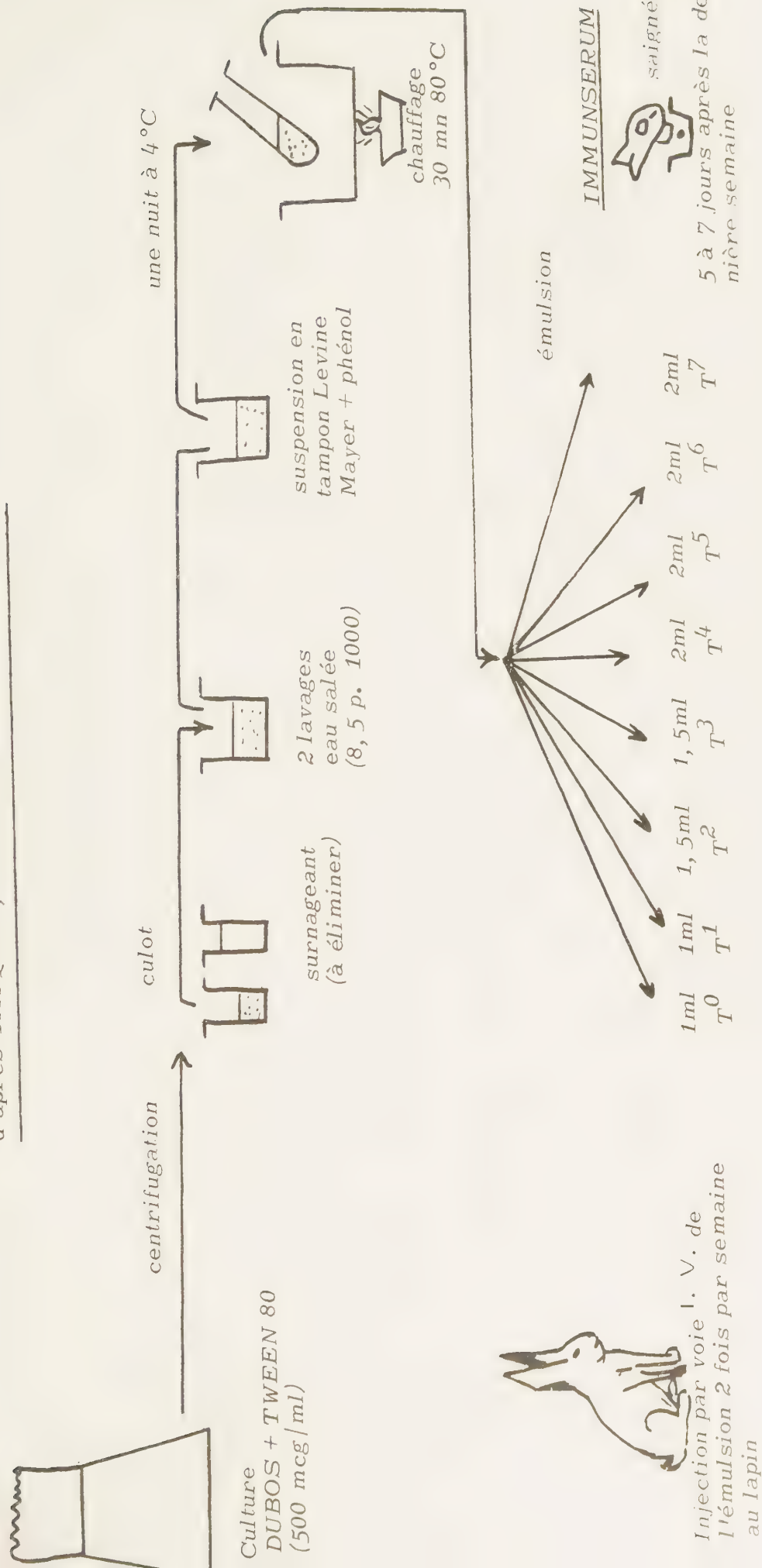
On met le culot en suspension dans une solution de LEVINE de MAYER phénolée à 0,5 % jusqu'à l'obtention d'une concentration de 5 mg de mycobactéries par ml (densité optique à 525 mμ)

L'émulsion est portée à 4°C pendant une nuit puis avant usage, chauffée à 80°C pendant 30 minutes.

Cette préparation est la suivante :

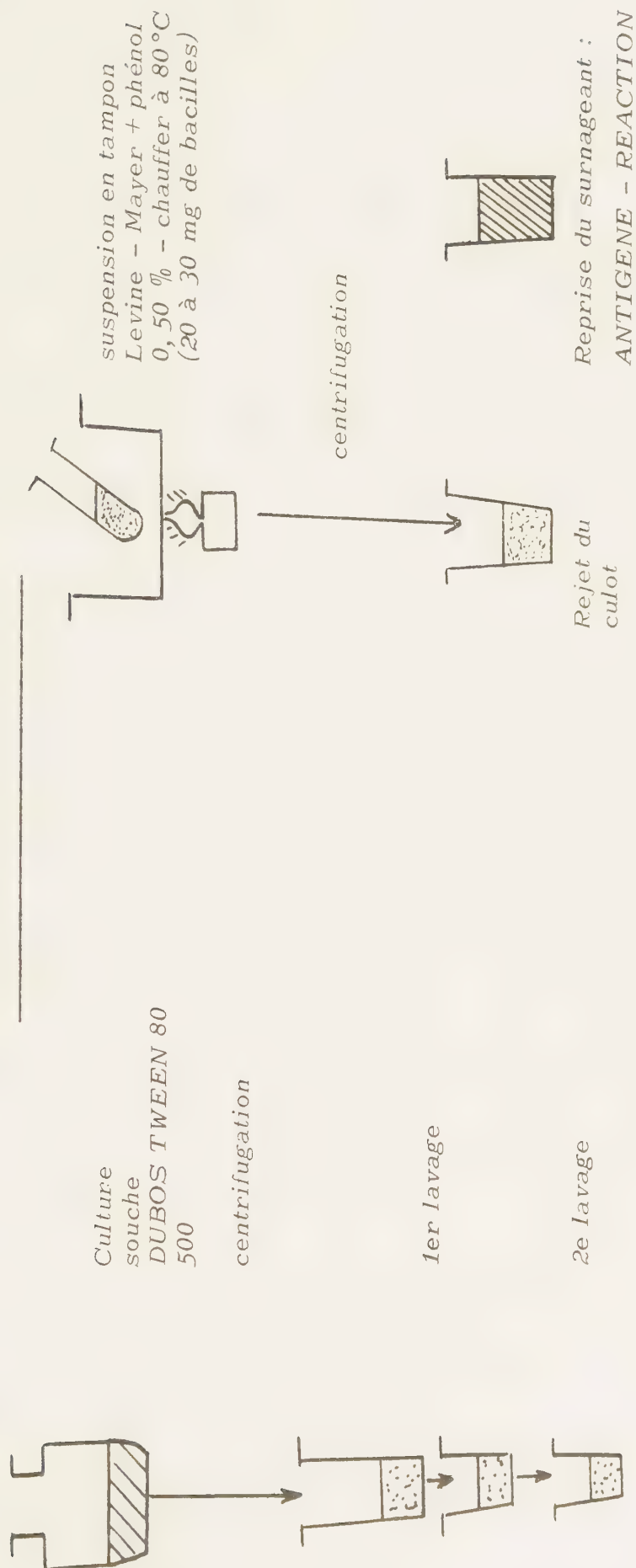
Préparation de l'antigène en vue d'immunisation

d'après TACQUET, TISON et collaborateurs (49)



Préparation de l'antigène - Réaction

TACQUET, TISON et Coll. (49)



La technique a l'avantage de permettre l'étude sérologique de toutes les souches mycobactériennes et plus particulièrement celles auto-agglutinables ne pouvant pas être typées par la méthode d'agglutination. En outre, le besoin en immunsérum est moins grand lorsqu'on travaille sur plaque de PRESTWARE.

Les laboratoires spécialisés disposent des immunsérums préparés avec :

Mycobacterium kansasii
avium
intracellulare
xenopi
phlei
gastrii
terrae
fortuitum
bovis.

Quelques exemples :

1°) Immunsérum de *Mycobacterium kansasii* - variété *luciflavum* W 12 (ka 1)

L'antigène homologue fixe le complément à la dilution de 1/400e.

65 antigènes préparés à partir de la souche *Mycobacterium kansasii* ont été testés. 54 ont été positifs à une dilution supérieure à 1/200, les 11 autres donnent des taux de fixation de complément inférieurs à 1/200e.

La spécificité de cette immunsérum est excellente puisque la fixation anticorps-antigènes observée avec plusieurs souches ne l'a été qu'à des taux faibles, notamment avec :

Mycobacterium avium
xenopi
gordonae
gastri
terrae

ainsi qu'à d'autres principales espèces de mycobactéries atypiques.

2°) Immunsérum à *Mycobacterium xenopi*.

Il est préparé à partir de la souche Mant 9889 et fixe le complément en présence de la souche homologue à un taux de 1/200.

13 souches dévient le complément aux mêmes taux et ce sérum possède une spécificité en particulier vis-à-vis de *Mycobacterium avium* et *Mycobacterium intracellulare*.

Sérum KA 1 (*Mycobacterium kansasii* *luciflavum* souche homologue. Déviation du complément : 1/400 (par KOLMER).

<i>Mycobacterium Kansasii</i>		Autres Espèces	
Déviaton 1/200	Déviaton 1/200	Déviaton 1/200	Déviaton 1/100
Ka W 12 ^a	Ka H 12 39	Ka Cl 1623	Aviaire 2538
Ka Fouq	Ka Aug	Ka Cl 10662	Au foie de PII
Ka Boul	Ka T 109	Ka 1250 A	Xenopi 9889
Ka Van	Ka Visk	Kab 1250 B2	Aa Del
Ka Lec	Ka Just	Kc 1250 B1	Ab Val
Ka Vui	Ka Che	Kc CL 57	Ac Saïd
Ka Franq	Ka Bout.	Kc CL 5194	Gastri W 848
Ka Lor	Ka Duf	Kb 1250 B3	Gastri W 618
Ka Guil.	Ka Pah	Ka DOS	Gastri W 170
Ka Got	Ka GAR	Kc DUL	Terrae W 609
Ka Cl 1428	Ka Piet	Ka Deb	Terrae W 523
Ka Cl 9637	Ka Ni		
Ka Cl 3387	Ka 10 456		
Ka Cl 9691	Ka Tom		
Ka Cl 28	Ka Delb		
Ka Cl 7966	Ka Bert		
Ka Cl 1631	Ka Hab		
Ka Cl 8882	Ka Ma		
Ka Pet	Ka Leh		
Ka Var	Ka Mar		
Ka 587528	Ka Bas		
Ka St G.	Kab Pol		
Ka May	Kab H 1248B		
Ka Bal	Kab Czerz		
Ka H 1216	Kab Dhen		
Ka Jean	Kac 2302		
	Kac Ren		

Sérum Xenopi - (Mycobacterium mant 9889)

Souche homologue : Déviation de C - 1/200 (Technique de Kolmer)

<i>Mycobacterium xenopi</i>		Autres espèces	
Déviatiion (DC) 1/100	Déviatiion (DC) 1/100	Déviatiion du C 1/100	Déviatiion 1/50 (DC)
<i>Xenopi Mant 9889</i> <i>Xenopi Mant 608</i> <i>Xenopi Mant 437</i> <i>Xenopi Mant 20135</i> <i>Xenopi Mant 13806</i> <i>Xenopi Mant 13026</i> <i>Xenopi Mouth B1</i> <i>Xenopi Mouth B3</i> <i>Xenopi Ham</i> <i>Xenopi Rand</i> <i>Xenopi Foudr.</i> <i>Xenopi Jon</i> <i>Xenopi Lahra</i>		AV 17 } AV Wech } <i>Patho- gène</i> AV Foul } AV D vig } <i>Intra- cellulaire</i>	<i>Aviaire 2538</i> AV. F de Poule II } AV Hott } <i>Pathogène</i> AV Stag } AV Cult } AV Cerg } AV Wolk } AV Cuv } AV From } AV Deb } AV Kraw } AV Lev } AV Leg } AV 23 Cost } AV R 160 B } AV Bour } <i>Intracellulaire</i>

d - Les réactions d'immuno-précipitation en gel
d'Oudin et d'Ouchterlony :

Met en évidence l'existence de 15 lignes de précipitation pour le bacille tuberculeux, 5 pour le *Mycobacterium balnei* et 8 pour le *Mycobacterium kansasii* (d'après les travaux de LIND en 1961 et TISON et CARBONNELLE (53).

De même, l'étude de différentes espèces par rapport aux sérums hétérologues permet d'objectiver l'existence de 4 déterminants antigéniques communs à toutes les espèces mycobactériennes, et pour chaque espèce. C'est ainsi qu'on est arrivé à déterminer les espèces mycobactériennes par l'immunoprécipitation en gel et qu'on est parvenu à leur classification.

L'immuno-électrophorèse permet de réaliser une diffusion double en gélose, les constituants préalablement séparés par migration électrophorétique.

La méthode met en évidence des différences antigéniques significatives entre diverses espèces mycobactériennes ; malheureusement, elle est très complexe et ne permet pas ainsi que l'immunoprécipitation d'Ouchterlony de comparer entre elles et sur même document le comportement des préparations antigéniques différentes par rapport à un même immunosérum.

2°) RECHERCHES D'HYPERSENSIBILITE DE TYPE RETARDE

a - In vivo, TISON - CARBONNELLE (53)

La réaction à la tuberculine IPD a été considérée comme un phénomène spécifique et la positivité de la réaction tuberculinique permettrait d'affirmer une injection récente ou ancienne de tuberculose humaine ou bovine. Dès 1946, les animaux inoculés avec certaines mycobactéries atypiques réagissaient fortement à l'une

ou à l'autre des tuberculines vraies, ce qui a amené certains auteurs à modifier leurs tests allergologiques.

Depuis lors, les paratuberculines impures et grossières furent abandonnées au profit des substances purifiées comme PPD (Protein Purified Derivative) appelées encore sensitines par MAGNUSSON (34, 35, 36).

L'injection à un sujet d'une gamme de sensitines obtenues à partir de certaines mycobactéries donne le diagnostic exact de la souche responsable par la seule étude de la réaction allergique, ce qui a permis à cet auteur de différencier deux espèces de mycobactéries, le *mycobacterium avium* et le *mycobacterium intracellulare*.

Aujourd'hui, la spécificité des réactions permet de distinguer entre autre des mycobactéries voisines entre elles et chaque mycobactérie possède une sensitine spécifique à l'espèce.

b - In vitro :

Méthode due pour la première fois à PERMAN (196) en 1963 qui réussit à montrer que l'addition de tuberculine ou mieux PPD dans une culture de lymphocytes provenant des sujets sensibilisés, provoquait la synthèse de l'acide désoxyribonucléique entraînant des modifications cellulaires en les transformant en cellules blastiques. CHAPARAS et Mac FARLAN appliquent cette méthode aux sensitines obtenues avec des mycobactéries atypiques. Les résultats sont les mêmes que ceux pour les tests cutanés.

III - INFECTION EXPERIMENTALE A MYCOBACTERIES

ATYPIQUES

D'après les travaux de GERNEZ-RIEUX, TACQUET, MACQUET (18), de nombreuses recherches et travaux d'étude ont été effectués sur les mycobactéries atypiques.

CALMETTE en 1920 disait que certaines mycobactéries étaient capables de provoquer la formation des tubercules chez l'homme.

En 1932, HAGAN et LEVINE observent leur virulence sous l'action des corps gras sans préciser le mécanisme exact.

En 1953, BUHLER et POLLACK isolent le *Mycobacterium kansasii* dans l'expectoration d'un malade. Ils constatent que ces bacilles jaunes ne sont pas pathogènes pour le lapin et le cobaye, mais présentent des lésions chez la souris et entraînent la mort du hamster.

Les travaux de SCHMIDT, HOFFMAN et STEEKEN en 1957 constatent que l'inoculation intra-trachéale provoque chez le singe Rhésus l'apparition d'importantes infiltrations pulmonaires. Ces lésions provoquées à de fortes doses ont tendance à la régression spontanée.

Le pouvoir pathogène expérimental précis fut approfondi en 1959 par ADACH et ENGBAECK

MARKS J. et TROLOPE Dr. en 1960

MEISMER - DURR - SMITH et ALTMANN

OSHIMA et NAKAMURA.

1°) - INFECTIONS EXPERIMENTALES DU COBAYE

a) Injection sous-cutanée

Après inoculation sous-cutanée GERNEZ-RIEUX, TACQUET, MACQUET (18) puis VIALIER, CAYRE et AUGAGNEUR ont montré qu'on ne trouve qu'un petit abcès local associé parfois à une adéno-pathie satellite, vite résolutif en apparence, mais dont les traces peuvent persister pendant 1 à 2 ans.

b) L'inoculation intra-péritonéale

Elle semble entraîner une mortalité beaucoup plus élevée. 15 cobayes sur 30, inoculés avec *Mycobacterium avium*, meurent ainsi que 3 sur 15 inoculés avec *Mycobacterium gordonae*.

c) Inoculation intra-cardiaque

La mortalité a été considérable et plus rapide, mais cette méthode présente deux inconvénients :

- . traumatisante
- . manque de certitude de l'inoculation ; on ne peut pas prouver que l'injection a été faite dans le coeur gauche ou droit, ce qui rend la topographie variable.

Malgré ces difficultés expérimentales, DEVULDER a observé à cet effet des lésions ganglionnaires et viscérales plus élevées avec le *Mycobacterium kansasii* qu'avec les autres espèces de mycobactéries atypiques.

d) Inoculation intra-veineuse

Elle a été réalisée par le même auteur avec une suspension mycobactérienne obtenue à partir d'une culture de 10 jours

sur milieu Dubos - Tween 80 dans du sérum physiologique, à 61 cobayes de 1,631 g. Il a réparti les cobayes en 3 groupes :

- 1er groupe ou groupe A (dilution 10^{-1}) 5×10^{-7} germes viables
- 2ème groupe ou groupe B (dilution 10^{-3}) 5×10^{-5} de germes viables.
- 3ème groupe ou groupe C (dilution 10^{-5}) 5×10^{-3} de germes viables.

Mortalité et lésions anatomo-histologiques

Dans le groupe A, 7 sur 16 sont morts entre le 9e et le 16e jour avec des lésions pulmonaires de type miliaire, le foie légèrement augmenté de volume, une splénomégalie importante. On n'a pas observé de lésions rénales.

Dans le groupe B, 1 mort sur 17 le 16e jours.

Dans le groupe C, 1 mort sur 17 le 45e jour.

Les autres animaux ont été sacrifiés et on a noté plus particulièrement des lésions pulmonaires, hépatiques, ganglionnaires, médiastinales des surrénales et rénales. Ces lésions évoluaient vers la cicatrisation dès le 90e jour.

Chez les animaux de groupe B, les lésions étaient moins importantes. Pas de lésions dans le groupe C, ce qui prouve la notion de seuil.

2°) INFECTIONS EXPERIMENTALES CHEZ LA SOURIS

De nombreuses races de souris blanches sont sensibles à l'inoculation des mycobactéries atypiques, mais il faut de grosses doses par voie intra-veineuse.

WOLINSKY, SMITH MITCHEL et STENCKEN en 1957 ont obtenu avec le *Mycobacterium kansasii* des abcès miliaires des reins par voie intra-veineuse.

Le *mycobacterium gordonae* provoque des lésions viscérales.

MAC MILLEN KUSHNER et SENDERI en 1957 ont obtenu des lésions hépatiques et rénales intermédiaires entre abcès bactériens et granulome en inoculant le *Mycobacterium fortuitum* à la souris.

Les germes sont apportés au niveau des tissus pulmonaires et rénaux par le courant sanguin, mais il n'existe pas d'évolutivité ni de propagation de la maladie.

L'inoculation intra-veineuse de mycobactéries photochromogènes provoque des lésions pulmonaires et rénales microscopiquement visibles, conduisant à la mort. Les lésions ont été démontrées par les travaux de NAKAMURA.

Les mycobactéries scotochromogènes ne tuent pas la souris, mais donnent des lésions pulmonaires et rénales apparaissant parfois 14 à 18 mois après l'inoculation. Par ailleurs, si les lésions ne se rencontrent pas, certaines mycobactéries atypiques se distinguent des saprophytes par leur longue persistance à l'intérieur des viscères des animaux inoculés.

Des souris blanches (race swiss) inoculées par voie intra-péritonéale montrent quelques mois plus tard des mycobactéries dans les poumons et la rate, plus souvent mises en évidence par les cultures, mais cette présence semble indépendante avec la présence ou non des lésions histologiques.

D'autres auteurs comme KAPLAN, GRUMBACH et DOBROWOLSKI ont obtenu des abcès pulmonaires et de la rate après inoculation de mycobactéries atypiques par voie intra-veineuse.

3°) LES INFECTIONS EXPERIMENTALES DU HAMSTER

Les lésions sont les mêmes que celles obtenues chez la souris, avec une mortalité supérieure avec du *Mycobacterium kansasii* : 76 % contre 27 % pour les mycobactéries du groupe *avium* et 10 % pour le *Mycobacterium gordonae*.

Les lésions associées étaient :

- des tubercules pulmonaires
- une splénomégalie.

Plus rarement, on a observé des lésions rénales et hépatiques provoquées par le *Mycobacterium kansasii*, pas de lésions pour le *Mycobacterium gordonae*, et rien que des lésions spléniques n'ont été visibles avec les mycobactéries du groupe *avium*.

4°) INFECTIONS EXPERIMENTALES DU LAPIN

Les résultats sont ici différents selon la souche étudiée.

DEVULDER, en inoculant 0,1 mg de mycobactéries atypiques par voie I.V. a observé chez le lapin 37 % de mortalité pour les mycobactéries du groupe *avium*, 13 % avec le *Mycobacterium kansasii* et 16 % avec le *Mycobacterium gordonae*.

Certains auteurs comme KAPLAN, GRUMBACH et DOBROWOLSKI n'ont obtenu respectivement des lésions qu'avec de fortes doses de 1 à 5 mg. Les résultats ont été variables : soit des bacilles cultivables un an après l'inoculation qu'ils ont trouvés au niveau du rein, soit l'apparition des lésions tendineuses et articu-

lares pour les expériences réalisées avec les mycobactéries kansasii du type BATTEY ainsi que les souches aviaires et bovines.

Conditions susceptibles de modifier les infections expérimentales

L'association des mycobactéries avec des virus n'a pas montré de modifications dans l'évolution des lésions expérimentales. Par contre, l'association avec des poussières inertes : du carbone, quartz et autres poussières, sont des facteurs favorisant l'extension des lésions à mycobactéries atypiques, cela en fonction de la viabilité des bacilles, et selon que l'injection est antérieure ou postérieure à l'empoussiérage, d'après les travaux de GERNEZ-RIEUX, TACQUET, COLLET et DEVULDER (20).

Le traitement par les antibacillaires a été testé en même temps, ce qui a montré que les résultats favorables dépendent aussi de la précocité de l'institution de la thérapeutique après l'expérience d'empoussiérage, d'où l'intérêt de traiter les pneumoconiomycobactériose et pneumoconiobacillose dès le début de la maladie.

ETUDE : DES CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET DU POUVOIR PATHOGENE SPONTANES CHEZ L'HOMME ET L'ANIMAL

ESPECES MYCOBACTERIENNES	MORPHOLOGIE	POUVOIR PATHOGENE CHEZ L'HOMME	POUVOIR PATHOGENE CHEZ L'ANIMAL
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Bacilles fins 1 à 4 µ sur 0,3 µ	Tuberculose pulmonaire, urogénitale, osseuse, ganglionnaire, méningée, etc...	
<i>Mycobacterium bovis</i>	Bacilles petits trappus peu de granulations	Tuberculose urogénitale, osseuse, ganglionnaire, pulmonaire	Tuberculose des bovidés, caprins, porcins, etc...
<i>Mycobacterium bovis</i> B.C.G.	Bacilles assez longs	Exceptionnellement, adénopathies locales sans gravité	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> & <i>bovis</i> INH R	Bacilles fins 1 à 4 µ sur 0,3 µ	Tuberculose ganglionnaire et pulmonaire	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> varié	Bacilles fins 1 à 4 µ sur 0,3 µ	Tuberculose pulmonaire ganglionnaire, urogénitale	
<i>Mycobacterium Kansasi</i>	Bacilles souvent longs d'aspect strié en spirale	Tuberculose pulmonaire, d'autres lésions possibles en particulier adénites	
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Bacilles trappus petits en amas	ulcérations cutanées	Mammite chez les vaches, etc...
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Bacilles de dimensions variables	Adénites fréquemment pulmonaires	
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	Bacilles courts 2 µ	Adénites	
<i>Mycobacterium Avium</i>	Bacilles polymorphes parfois des ramifications	Tuberculose broncho-pulmonaire, ganglionnaire, etc...	
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Bacilles fins et longs 6 à 12 µ disposés en amas, absence de granulations	Manifestations pulmonaires, cutanées, ganglionnaires pleurales	
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Bacilles courts, arborescents, extrémités quelconques, incurvées, granulés métamorphiques.	Ulcères phagédéniques des pays chauds, ulcérations cutanées et pulmonaires fermes.	
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Bacilles polymorphes, souvent cellules très courtes	Adénites et localisation broncho-pulmonaire	
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Bacilles de 2 à 3 µ, parfois filamenteux avec branchements	Abcès et adénites, rarement manifestations broncho-pulmonaires.	
<i>Mycobacterium Forti</i>	Bacilles 1 à 3 µ polymorphe	Saprophyte	
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Bacilles 3 à 5 µ renglés souvent filamenteux	Saprophyte	
<i>Mycobacterium Chelonii</i>	Bacilles de 3 à 5 µ groupes S.V.T. en amas	Abcès et infections cutanées	

		Vitesse de Croissance	Pigmentation	Aspect des colonies	Température optima	B.S.H.	Niacine	Nitrates Wirtanen	Catalase	Nitrate T.T.	Nitrites	C. F. A.	Tributyryne esterase	Lipase	Peroxydase	Amidase	Beta galactosidase	Amylase	LAPIN	COBAYE	POULE	SOURIS
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>		Eugonique à 30 jours	Non chromogène	Rugueuses	Opt 35 à 37° C	+	+	+	0 à 70°	+	0	0	0	0	+	3-5	0	0	IV	SS cut +	0	1 mg
<i>Mycobacterium bovis</i>		Dysgonique à 9 mois	Non chromogène	lisses et humides	Opt 37° C	0 sauf NHR	0	0	0 à 70°	0	0	0	0	0	+	3	0	IV 0,02 mg +++	SS cut ++	0	0	1 mg
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG		Eugonique	Non chromogène	Rugueuses	Opt 37° C	0 7%	0	0	+	0	0	0	0	0	+	3	0	0	0	ID +	0	0
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Dysgonique milieux par-ticuliers	Non chromogène	lisses	Opt 37° C	+	+	+	0	+	0	0	0	0	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Dysgonique à 4 semaines	Non chromogène	Mates Plates bourgeon central	Opt 37° C	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Eugonique à 20 jours	Photochromogène	S.R le aut parfois R.	Opt 37° C pos. 20° & 30°	+	+	+	0	+	0	0	0	+	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Eugonique à 7 jours	Photochromogène	S & parfois R	Opt 30° C après 48h repiquage à 37° C	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Eugonique à 15 jours	Scotochromogène	lisses	Opt 30° C 22-37° C pas à 45° C	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Eugonique à 15 jours	Scotochromogène	lisses	Opt 0° C-37° C pas à 45° C	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Eugonique à 15 jours	Scotochromogène	lisses	Opt 37° C 44° C	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Eugonique à 15 jours	Scotochromogène	S ou R (oursin)	Opt 42° C Pos. 30° C 50° C pos 22° C	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Eugonique à 15 jours	Non chromogène	S translucides	22-37° C mal à 42° C pos. à 46° C	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃ R		Eugonique à 4 semaines	Non chromogène	Rugueuses	30-35° C In-constante 22° & 37° C	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	3-5	0	0	0	SS cut régres-quartz	0	1 mg
<i>Mycobacterium fortuitum</i>		Eugonique à 4 jours	Non chromogène parfois vert	S ou R pré-sence de filaments périphériques	22 & 42° C Opt 38 à 35° C	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	1-3	+	0	0	0	0	IV 1 mg septicémie + 48 heures
<i>Mycobacterium fortuitum</i>		Eugonique à 3 jours	Scotochromogène orange	Rugueuses	22 à 52° C ther-morésistant	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	3-5	0	0	0	0	0	0
<i>Mycobacterium fortuitum</i>		Eugonique à 5 jours	Scotochromogène crème puis jaune-orange	Rugueuses mates	Opt 28 à 45° C	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	1-2	+	0	0	0	0	0
<i>Mycobacterium fortuitum</i>		Eugonique à 5 jours	Scotochromogène crème puis jaune-orange	Lisses	20° & 37° C	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	1-2	+	0	0	0	0	0

IV - CLASSIFICATION DES MYCOBACTERIES
ATYPIQUES

1°) - CLASSIFICATION DE RUNYON (53)

C'est en 1959 que RUNYON conscient de la fréquence croissante de ce type d'infection propose la première classification en quatre groupes, puis cette classification a été reprise à l'occasion de la 15ème Conférence Internationale de Tuberculose à ISTANBUL en 1959.

LE GROUPE I

Il réunit les mycobactéries photochromogènes à culture lente, colonies pigmentant en jaune en présence de la lumière solaire ou artificielle. La température de culture est comprise entre 30 et 37°C, ces bactéries ne poussant pas à 45°C.

LE GROUPE II

Il englobe les mycobactéries scotochromogènes cultivant à l'obscurité, donnant une pigmentation d'emblée jaune, poussant lentement en 8 à 20 jours à 37°C, et pas du tout à 45°C. Les colonies sont rugueuses.

LE GROUPE III

Il réunit les mycobactéries non chromogènes cultivant lentement, les colonies sont lisses et petites, blanches quelquefois teintées de jaune. La forme des bacilles est coccoïde. La température de culture est de 45°C et leur pousse est abondante. Certaines sou-

ches peuvent pousser entre 37° C et 45° C comme le *Mycobacterium avium* et le *Mycobacterium intracellulare*.

LE GROUPE IV

Il comprend les mycobactéries à croissance rapide cultivant en 24 à 48 heures. Les colonies sont rugueuses, leur aspect est celui du bacille tuberculeux. Elles peuvent être lisses et humides. Poussent entre 22° C et 45°C.

Les mycobactéries atypiques pathogènes appartiennent au groupe I et III. Celles du groupe IV sont essentiellement saprophytes, ce qui a permis à GERNEZ-RIEUX, TACQUET et collaborateurs une classification simplifiée comportant les espèces pathogènes et non pathogènes (Annales Médicales Nancy).

Mycobacterium kansasii avec les 3 variétés :

- *Luciflavum* photochromogène
- *Album* non photochromogène
- *Aurantiacum* scotochromogène.

Mycobacterium avium non photochromogène du genre aviaire et Battey

Mycobacterium aquae ou *xenopi* scotochromogène (type 1 - 2 - 3).

Sont également pathogènes pour l'homme, le *Mycobacterium balnei* ou *marinum* et le *mycobacterium fortuitum* ou *minetti*.

Par contre, le *Mycobacterium phlei* et *smegmatis* n'ont qu'un rôle purement saprophyte.

2) CLASSIFICATION DE RUNYON, WAYENE, KUBICA
en 1969 avec les dénominations qui doivent être évitées.

CLASSIFICATION DE RUNYON	ESPECES	SYNONYME ACCEPTABLE	DETERMINATION A ABANDONNER
GROUPE I Croissance lente photochromogène pigment après exposition à la lumière	Mycob. kansasii Mycob. marinum culture 30° C		Myc platypsecilis Myc balnei
GROUPE II Croissance lente scotochromogène	Mycob. gardenae Mycob. scrofulaceum Mycob. flaviscens Mycob. king-fong X	Tap Water Scotochromogène Scrofula scotochromogène	Myc aquae Myc manganum
GROUPE III Croissance lente non chromogène Peuvent acquérir après repiquage une certaine pigmentation	Mycob. avium Mycob. intracellulare Mycob. xenopi Mycob. ulcerans Mycob. gastri X Mycob. terrae X Mycob. triviale X Mycob. non photo chromogenicum X	Bacille tuberculeux aviaire Battey bacillus	Myc batteyi Myc xenopei (ou littorale)
GROUPE IV Croissance rapide	Mycob. fortuitum Mycob. abscessus Mycob. bottelense Mycob. phlei X Mycob. smegmatis X Mycob. vaccae X Mycob. diernhoferi X Mycob. flammophiles X Mycob. anabanti X		Myc minettii-giae-lanae

Classification des Principales mycobactéries selon RUNYON, WAYENE, KUBICA (53) en 1969.

x : espèces non pathogènes

3°) - CLASSIFICATION DES MYCOBACTERIES PAR LES
METHODES IMMUNOCHIMIQUES, G. GRIMPL (22).

Ces méthodes permettent de comparer les structures antigéniques des mycobactéries. L'intérêt de ce travail a été de déterminer les groupes des mycobactéries conjointement à l'aide des méthodes biochimiques et immunochimiques.

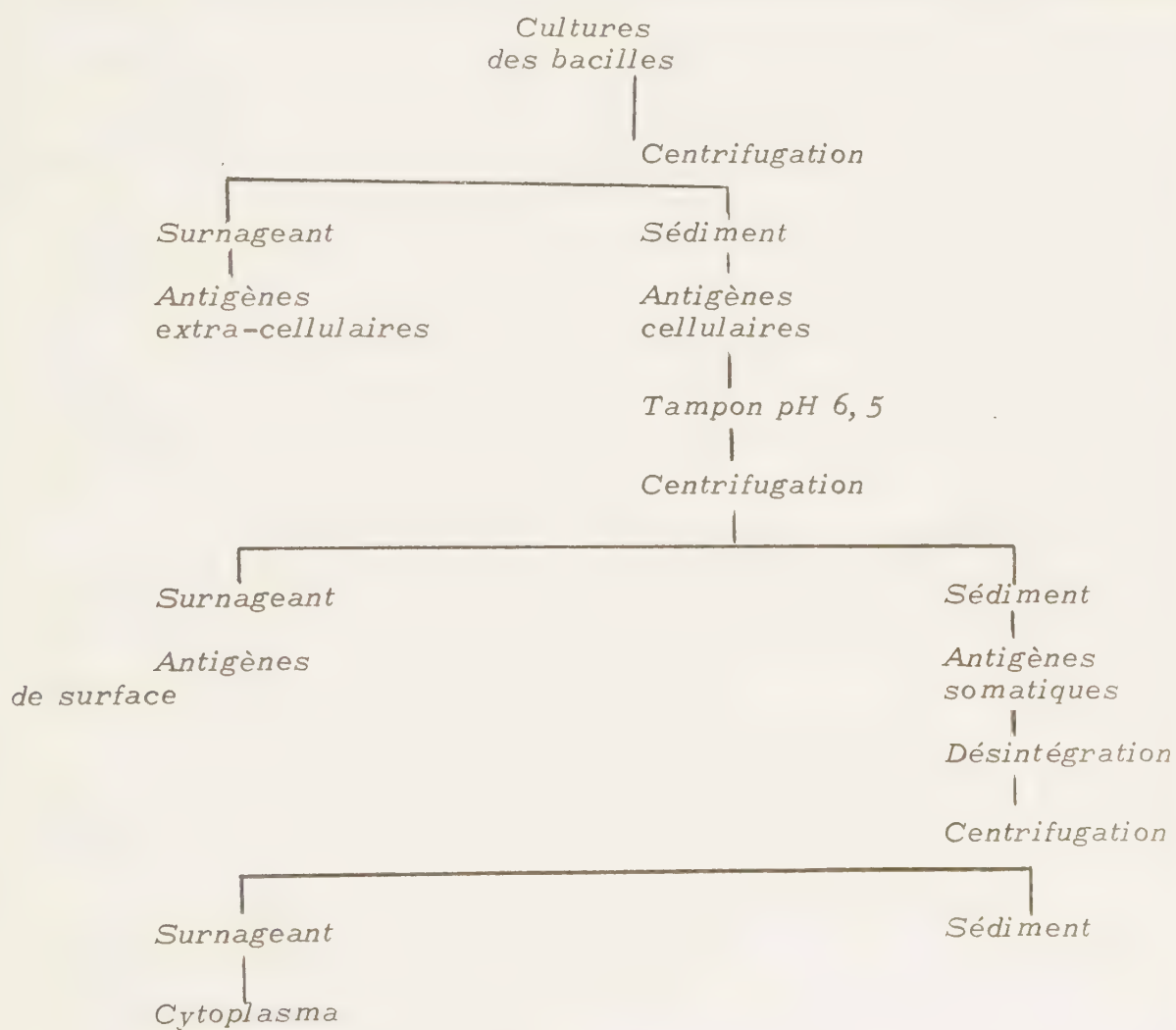
1°) Sur 126 souches étudiées, la distribution est la suivante :

<i>Espèces de Mycobactéries</i>	<i>Souches testées</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	19
<i>bovis</i>	5
<i>avium</i>	8
<i>kansasii</i>	23
<i>gastri</i>	5
<i>Mycobacterium</i> du groupe RUNYON II	14
" " III	8
<i>terrae</i>	3
<i>croissance rapide</i>	41
9	126

2°) Vérification des espèces par photo ou scotochromogénéité, par les tests immunochimiques et par les tests biochimiques (niacine, catalase, peroxydase, citrate de fer, amidase, dégradation de l'acide oléique, activité arysulfate).

3°) L'immunisation expérimentale chez les animaux de laboratoire a été réalisée avec un antigène cellulaire et l'analyse effectuée avec un antigène extra-cellulaire préparé comme ci-dessous.

DIVISION DES ANTIGENES SOLUBLES DES MYCOBACTERIES
(GRIMPL)



Préparation de l'immunsérum comme nous l'avons dit en page 61.

Préparation des antigènes extra-cellulaires page précédente. On utilise à cet effet des cultures homologues sur Sauton âgées de 2 mois. Ces filtrats non chauffés utilisés sur Seitz doivent être dialysés et concentrés par l'évaporation.

Les méthodes immunochimiques utilisées sont les suivantes :

- Immuno-diffusion d'OUTCHERLONY
- Immuno-électrophorèse selon GRABAR
- Immuno-absorption du sérum faite avec les antigènes hétérologues pendant 18 heures à la glacière.

Résultats

Ces examens ont été étayés par l'étude comparative de la structure antigénique des souches humaines et bovines qui ont révélé des structures antigéniques homogènes.

L'absorption des immunsérums anti-mycobacterium tuberculosis par ceux du mycobacterium kansasii, a mis en évidence les composants caractéristiques pour le mycobacterium tuberculosis et bovis représentant le Groupe I.

Le Mycobacterium kansasii par l'homogénéité de sa structure antigénique a été classé dans le Groupe II.

L'analyse du Groupe V et du mycobacterium terrae a montré qu'ils peuvent être différenciés de toutes les mycobactéries.

Ci-contre :

- Tableau de classification selon la méthode immunochimique par GRIMPL (Budapest).

GROUPES	ESPECES DE MYCOBACTERIES	IMMUNSERUMS	COMPOSANTS CARACTERISTIQUES	NOMBRE DE SOUCHES TESTEES
I	<i>M. tuberculosis</i> <i>M. bovis</i> <i>M. bovis</i> par BCG	anti-H 37 Hv anti-Ravenel anti-BCG	L'absorption de l'immunsérum se fait par un des antigènes du groupe H	24
II	<i>M. Kansasi</i> par luciflavum par aurarii flavum par niacin posit <i>M. gastr</i>	anti-kansasi anti-gastri	L'absorption de l'immunsérum se fait par un antigène du groupe I	28
III	<i>M. du groupe avium</i>	anti-avium anti-bathey	L'absorption de l'immunsérum se fait par un des antigènes des groupes I ou II	16
IV	<i>M. aquae</i> <i>M. scrofulaceum</i> <i>M. marianum</i>	anti-aquae anti-scrofulaceum	L'absorption de l'immunsérum se fait par un des antigènes du groupe II	14
V	<i>M. marinum</i> <i>M. balnei</i> <i>M. platypocillus</i>	anti-balnei		5
VI	<i>A. phlei</i>	anti-phlei	L'absorption de l'immunsérum se fait par un des antigènes du groupe VIII	7
VII	<i>M. fortuitum</i> <i>M. Minetti</i> <i>M. glae</i>	anti-fortuitum	L'absorption de l'immunsérum se fait par un des antigènes des groupes VI ou VIII	10
VIII	<i>M. smegmatis</i> <i>M. lactiscola</i> <i>M. butyricum</i> <i>M. rabinowitsch</i> <i>M. ranae</i> <i>M. froman 607</i> <i>M. friburgensis</i> <i>M. friedmann</i>	anti-smegmatis anti-lactiscola anti-butyricum anti-ranae	L'absorption de l'immunsérum se fait par un des antigènes du groupe VI	19
	<i>M. terrae</i>		Différencié de toutes les mycobactéries	3
TOTAL				126

V - EPIDEMIOLOGIE des MYCOBACTERIES

ATYPIQUES

1°) FREQUENCE DES MYCOBACTERIES ATYPIQUES

Des variations géographiques considérables existent, le plus grand nombre de souches est isolé aux ETATS-UNIS. En 1952, d'après les travaux de GERNEZ-RIEUX, TACQUET, DEVULDER et DEBRUNYE, pour 1 % des malades tuberculeux admis à l'hôpital BATTEY STATE de Rome en Géorgie, ce diagnostic a été porté ; 26 souches chromogènes ont été colligées par BUHLER et POLLAK entre 1951 et 1953.

En 1958, à Chicago, sur 929 cas de tuberculose relevée par LISTER et collaborateurs, 30 % sont dus au M.A. et en 1962, 40 % des cas de tuberculose pulmonaire par WOODWARD et HUNTER.

De 1953 à 1965, une enquête de la VETERANS ADMINISTRATION a permis à BATES de colliger 199 cas de mycobactéries respiratoires.

Les statistiques rapportées par SWEANY, en 1963, montrent que sur 1 000 cultures effectuées dans l'état du MISSOURI, 22,9 % étaient des mycobactéries atypiques.

Pour CHAPMAN, dans les années 1967 et 1968, 30 % des tuberculeux pulmonaires de la région de DALLAS au Texas étaient dus aux mycobactéries atypiques.

FISCHER et collaborateurs à DENVER (Colorado), en 1968, rapportent 50 cas de mycobactérioses pulmonaires parmi les 1 185 sujets tuberculeux. JOHNSON, en 1969, colligeait 99 cas de ces observations réunies au WOOD-LAWN Hospital de DALLAS de 1957 à 1967.

Les mycobactérioses cutanées sont fréquemment rencontrées en AFRIQUE, mais on y rencontre aussi quelques cas ganglionnaires et pulmonaires. Les mycobactérioses sont d'après les statistiques plus élevées qu'en Europe.

Au Congo et Rwanda-Burundi, de 1956 à 1959, VAN DEN ABEELE a identifié 17 fois de telles mycobactéries sur 410 souches étudiées. Au Kenya, SULA a décelé de nombreux cas de mycobactérioses ganglionnaires.

ZYKOW et collaborateurs sous l'égide de l'O.M.S., ont fait une enquête en 1967, et rapportent que 1,9 % des cas sur 18 568 souches isolées, de 1961 à 1964, dans les crachats d'expectoration en provenance de 7 pays : KENYA-RHODESIE du Sud - MALAWI - ZAMBI - TANZANI - LESOTHO et les Iles SEYCHELLES, 41,2 % de mycobactéries isolées étaient non chromogènes (groupe III de RUNYON). Dans la même année, à l'Institut Pasteur de DAKAR, CASTET et BOIRON rapportent 4,2 % de tuberculose à mycobactéries atypiques.

En Australie, KOVACS en 1962, et DAVEYS en 1967 montrent la fréquence croissante des mycobactéries respiratoires dans cette partie du globe et la prévalence des infections à *Mycobacterium intracellulare*.

YAMAMOTO au Japon et ses collaborateurs colligeaient de 1955 à 1965, 102 cas de mycobactérioses dont 76 cas d'infections à *Mycobacterium avium*.

En Argentine, la fréquence des mycobactérioses s'avère relativement faible : 0,19 ‰ des cas de tuberculose pulmonaire, alors que la fréquence des mycobactéries atypiques s'élève à 1,6 ‰ (128 sur 7 864 souches de bacilles isolés de 1963 à 1967 par CETRANGOLO et DE KANTOR.)

En Europe

En France, à LYON, de 1956 à 1961, VIALIER et collaborateurs CAYRE et AUGAGNEUR sur 55 000 cultures effectuées ont isolé des mycobactéries atypiques chez 29 malades (Inst. P.).

A l'Institut Pasteur de PARIS, BRETEY et BOISVERT ont authentifié en 1960, 21 cas de mycobactérioses pulmonaires et 61 cas de mycobactérioses ganglionnaires, le *Mycobacterium xenopi* étant en cause.

Dans la région du Nord, à l'Institut Pasteur de LILLE on rapporte 59 cas de mycobactérioses de 1961 à 1970, soit 0,26 ‰ de 22 526 de tuberculoses pulmonaires diagnostiquées, représentées par le tableau ci-contre.

Fréquence des isolements des mycobactéries des cas de tuberculose
et de mycobactériose pulmonaire
(Institut Pasteur de Lille 1961 à 1970)

ESPECES DE MYCOBACTERIES	Souches Isolées	Nombre de Sujets	Tuberculoses Confirmées à bacilles		Mycobactérioses confirmées	
			humains	bovins	Pures	Mixtes
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	40 402	22 404	22 315			
<i>Mycobacterium bovis</i>	206	152		152		
<i>Mycobacterium kansasii</i>	279	82			18	10
<i>Mycobacterium</i> du groupe aviaire	297	182			19	6
<i>Mycobacterium gordonae</i>	286	256			4	2
TOTAL	41 470	23 076	22 315 (99%)	152 (0,67%)	41 (0,18%)	18 (0,07%)

	<i>Myc. kansasii</i>	<i>Myc. du groupe aviaire</i>	<i>Myc. aquae</i>	GROUPE IV
<i>Sans association</i>	51	42	30	19
<i>Avec association tuberculosis autres espèces</i>	6	5	3	8
	7	7	3	-
<i>Association avec plusieurs espèces de mycobactéries</i>	1 cas 1	<i>kansasii</i> 1	+ <i>avium</i> 1	+ <i>aquae</i> 1

En Allemagne Fédérale, par MEISSNER qui colligea 80 cas de 1958 à 1967, et de 1954 à 1968, 173 cas dans les statistiques de FISCHER.

En Grande Bretagne, 81 cas par MARKS rapportés de 1955 à 1965.

En Belgique, PATTYN et ses collaborateurs, KORSAK et ses collaborateurs ont rapporté plus récemment des observations analogues.

Fréquence chez les pneumoconiotiques et les non pneumoconiotiques.

Des observations ont été faites sur 160 cas ; 22 cas parmi eux étaient associés au bacille de Koch dont 138 seulement à mycobactéries atypiques pures.

121 étaient pneumoconiotiques actifs ou retraités. 17 cas concernent des mineurs non pneumoconiotiques. Il existe donc une différence de fréquence d'isolement dans les populations ci-dessous.

Sur 130 000 non pneumoconiotiques, 17 sujets porteurs de mycobactéries atypiques, soit au total : 0,13 %.

Sur 40 000 mineurs pneumoconiotiques, 128 porteurs de mycobactéries atypiques, soit au total : 3,6 %, d'où confirmation de contamination plus élevée chez les sujets pneumoconiotiques.

Les germes responsables sont : sur 12 cas :

- 9 cas pour le *Mycobacterium kansasii*
- 3 cas pour le *Mycobacterium avium*.

Sur 14 observations, le *mycobacterium kansasii* seul ou associé : 10 cas, et 4 cas pour les mycobactéries du groupe *avium* seul ou associé.

Il faut remarquer que le nombre de malades présentant dans cette région une mycobactériose est peu importante pour permettre l'étude statistique utile et la répartition géographique.

Il faut seulement tenir compte des souches de mycobactéries qui, à l'examen, présentent un certain intérêt pour la distribution géographique.

REGIONS	Mycob. Kansasi	Myc. du groupe avium	Mycob. aeruginosa	Myc. du groupe IV
NORD	3	7	5	4
PAS de CALAIS	54	47	40	19

2°) - MODE DE CONTAMINATION

Le mode de contamination par les mycobactéries atypiques chez l'homme est encore inconnu.

La transmission humaine proviendrait davantage de l'environnement étant donné que la contamination interhumaine paraît exceptionnelle. Pour CHAPMAN, joueraient peut être un rôle le sol, l'eau, les aliments ou le lait.

1 - Le réservoir hydro-tellurique

Les mycobactéries sont répandues dans la nature et réparties dans le réservoir hydro-tellurique comme le montre le tableau ci-dessous :

Tableau d'isolement des mycobactéries atypiques dans la nature
(par Viallier -(63)).

<i>Lieu de prélèvement</i>	<i>Nombre de prélèvements</i>	<i>Nombre de souches isolées</i>
<u>I - EAUX COURANTES</u>		
<i>Fleuves et rivières à gros débit</i>		
<i>Rhône - Saône - Isère</i>	200	140
<i>Ruisseaux petits cours d'eau</i>	125	40
<i>Etangs et mares permanents</i>	65	13
<i>Lac d'Annecy et ses affluents</i>	85	9
<i>Abreuvoirs fontaines</i>	7	8
<u>II - SOLS</u>		
<i>Terre et sable</i>	23	14
<i>Poussière de Mine</i>	247	15
<u>III - EAUX USEES et STATIONS D'EPURATION</u>		
<i>16 stations d'épuration</i>	50	132
<i>Eaux usées de l'hôpital J. Courmont</i>	23	8
<i>Eaux de laiteries</i>	2	0
<u>IV - AQUARIUM e t POISSONS</u>		
<i>Eau d'aquarium</i>	32	24
<i>Poissons</i>	29	27
<u>V - INSECTES</u>		
<i>Prélevés dans la nature</i>	86	0
<i>Cafards prélevés dans les labora- toires</i>	27	11
TOTAL GENERAL	1001	441

2 - Le réservoir animal

Ce réservoir est réel sans preuve tangible pour le moment. Les rongeurs sont accusés d'être porteurs tissulaires des mycobactéries atypiques, ce qui explique l'allergie tuberculinique de cobayes non inoculés. La souris a été aussi incriminée d'être porteuse.

Les mammifères domestiques sont tantôt atteints par les mycobactérioses, tantôt porteurs. Les principales manifestations chez l'animal sont les suivantes :

- les affections pulmonaires et ganglionnaires chez les bovidés et le rôle joué par le *Mycobacterium kansasii*,
- des thélites nodulaires de la vache laitière, voire quelques pneumopathies félines et la découverte du *Mycobacterium aquae* dans les lésions énoncées ; des mammites ou des nodules tuberculoïdes cutanés chez les bovins, l'adénite du porc avec le *Mycobacterium fortuitum* ; le *Mycobacterium avium* ou les germes de son groupe provoqueraient des métrites, des mammites, des lésions cutanées et des adénites chez les bovins, le porc et le chien.

De ces mammifères, le porc occupe donc la première place. A. TACQUET, B. DEVULDER, H. LECLERC ont isolé des amygdalites et des adénopathies cervicales pour 98 animaux présumés sains, plusieurs souches notamment le *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium* du groupe aviaire et *Mycobacterium scrofulaceum*. Le tableau ci-contre permet de confirmer les données.

Se basant sur ces observations de la maladie animale causée par les mycobactéries atypiques, M. J. VIALIER et L. JOUBERT rentrent finalement certaines mycobactérioses dans le groupe des entropozoonoses. (Epidémiologie des infections à Mycobactéries atypiques (68)).

Répartition de 118 souches provenant du Réservoir animal
(Jean Michel CARRET (9)).

ORIGINE	I D E N T I F I C A T I O N								
	AQUAE			AVIUM	GROUPE AVIUM	PORTUTUM	FLAVESCENS	PHLEI	TERRAE
	I	II	III						
Batraciens	0	1	4	0	0	0	0	0	0
Molusques marins	1	21	1	0	0	0	0	0	0
Molusques eaux douces	2	1	0	0	0	1	0	1	0
Blattes locaux hospita- liers	2	3	8	0	0	1	0	0	0
Insectes	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Poissons	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Aquarium (eaux poissons)	13	13	1	0	0	5	0	0	0
Fientes d'oiseaux	2	1	0	0	0	0	4	0	1
Animaux labo sains	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Oiseaux malades	0	0	0	18	0	0	0	0	0
Animaux malades									
Bovidés, suidés	0	0	0	4	0	0	0	0	1
Singes	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Chats	0	0	0	1	0	0	0	0	0
• TOTAL	21	42	14	25	2	7	4	1	2

CONCLUSION

Ces résultats sont décevants, à première vue. L'étude permet de constater que les différentes mycobactéries atypiques rencontrées dans la nature font partie de la flore microbienne banale et saprophyte. D'autres sont contaminantes, responsables des mycobactérioses humaines. Certains auteurs ont rapporté des observations des contaminations directes et la propagation se ferait par voie lymphatique, peut-être à cause d'une affinité spéciale pour les mycobactéries atypiques au système lymphatique. Cette hypothèse est prouvée pour le *Mycobacterium scrofulaceum*.

Enfin, dans d'autres cas, l'on suspecte une contamination par inhalation au contact d'un poulailler qui serait le réservoir de *Mycobacterium xenopi*. Une enquête à ce sujet est en cours.

D'autre part, on trouve les mycobactéries atypiques un peu partout. L'importance du terrain joue un grand rôle, en particulier l'empoussiérage. Sur 43 observations de mycobactérioses pulmonaires dépistées à l'Institut Pasteur de LILLE de 1961 à 1967, 30 concernent des mineurs de charbon pneumoconiotiques.

Ces données permettent des doutes sur la possibilité de contamination interhumaine malgré les observations incontestables qui ont été rapportées par certains auteurs et le mode de contamination qui reste encore à élucider.

VI' - DIAGNOSTIC CLINIQUE ET
CRITERES DE DIAGNOSTIC

De nombreux auteurs ont contribué à l'étude du diagnostic des mycobactérioses que nous développons ici, AMOODRU, CLAEYS, DRIEU, GERVOIS (2), BATES (3), BRETEY, BOISVERT (5), GERNEZ - RIEUX, TACQUET, DEVULDER et DEBRUNYE (15, 20), HUEMPENER, KYNGSOLVER, DEUSCHLE (27), MACQUET et VOISIN (47), TISON, TACQUET et DEVULDER (55), VIALLIER (63, 67) etc...

Le diagnostic d'une mycobactériose ne peut être seulement bactériologique, mais doit aussi reposer sur l'indispensable corrélation des faits cliniques radiologiques, bactériologiques et biologiques.

Le meilleur critère de diagnostic consiste en l'isolement répété des mycobactéries atypiques appartenant à une même espèce, en dehors de toute présence de bacilles tuberculeux humains ou bovins chez un malade présentant des signes évidents d'infection bacillaire.

Ces lésions peuvent être pulmonaires, ouvertes, ganglionnaires, fistulisées, cutanées, ulcérées et d'exceptionnelles mycobactérioses urinaires ou généralisées.

Devant ces résultats, le diagnostic de mycobactériose est évident, mais il sera aussi admis en présence de bacilles tuberculeux humains ou bovins associés aux mycobactéries

atypiques, si ces derniers germes sont isolés à maintes reprises dans les produits pathologiques. On dira dans ce cas infection mycobactérienne mixte à bacilles typiques et atypiques.

En cas d'isolement unique, soit 1 mycobactériose ganglionnaire, 1 mycobactériose osseuse, 1 mycobactériose généralisée, 1 mycobactériose hématologique, ce diagnostic ne pourra être retenu qu'en présence des formes anatomiquement fermées. Pour étayer le diagnostic, il faut compléter celui-ci par des examens histologiques et allergologiques.

Il faut éliminer la contamination de laboratoire parfois évidente, du fait de l'apparition de plusieurs cas semblables chez des malades différents, à des dates d'examen rapprochées, ou apparition d'une même colonie de mycobactéries sur tous les tubes d'une même culture.

Par contre, l'isolement par exemple des mycobactéries d'une ponction ganglionnaire ou poumon réséqué chirurgicalement permet de retenir le diagnostic. La ponction ganglionnaire doit s'effectuer sur une adénopathie fermée, si celle-ci est fistulisée, il y a doute de contamination extérieure.

En cas d'exérèse pulmonaire, la priorité est donnée à l'examen bactériologique.

En cas de tubage gastrique, il faut exiger les examens répétés et sur des milieux de culture à croissance abondante afin d'éliminer la possibilité de germes de contamination ou des commensaux.

En cas d'association des bacilles typiques et atypiques, ces premiers déterminent la virulence et l'évolution de la maladie, les bacilles atypiques ne jouent qu'un rôle accessoire.

Les bacilles tuberculeux dans ce cas peuvent ne pas être évidents, soit peu nombreux, soit cultivés lentement. Il faut alors inoculer aux cobayes qui sélectionneront les bacilles tuberculeux.

Il faut ensuite faire des réactions cutanées aux tuberculines PPD (Purified Protein Derivative) ou sensitines mises en évidence aux Etats-Unis par EDWARD ET PALMER et aux Statens serum institute de Copenhague par MAGNUSSON(34, 35) et l'Institut Pasteur de Paris par BRETTEY.

Les réactions sont faites par voie intra-dermique. Elles sont lues à la 72e heure et le résultat est exprimé en induration, sans tenir compte toutefois de l'érythème associé. Ces données sont toujours comparées à celles d'une intra-dermo-réaction (ID) faite le même jour avec des protéines de *Mycobacterium tuberculosis* venant du même laboratoire, PPDS pour la tuberculine anglaise, RT 23 pour la tuberculine danoise. Une intra-dermo-réaction à 10 U.I. de tuberculine IP 48 de l'Institut Pasteur de Paris a été associée aux tests précédents.

Les tuberculines de bacilles atypiques sont diverses. On utilise dans ces cas des protéines de bacilles aviaires PPDA ou des bacilles BATTEY PPDB qui ont les mêmes propriétés antigéniques.

Résultats

Chez l'adulte, ayant déjà été infecté par le bacille tuberculeux, les réactions à la tuberculine et aux sensitines peuvent être semblables, mais une réaction négative aux sensitines n'exclut pas la possibilité d'une mycobactériose.

Les réactions données par une tuberculine aviaire ou par une sensitine du type smegmatis est plus importante chez une personne souffrant d'une affection due à ce germe que chez le porteur d'une tuberculose à *Mycobacterium tuberculosis* ou bovis.

Inversement, une affection à bacilles smegmatis est suffisante pour créer une allergie de type tuberculinique, faible disparaissant à la guérison. Cette notion d'allergie doit attirer l'attention des cliniciens qui négligent de pratiquer une vaccination BCG en présence de cette fausse réaction et exposent des enfants à la méningite bacillaire.

Tous les auteurs, les pneumologues ainsi que les pédiatres sont d'accord pour dire que les réactions tuberculiques de faibles intensités chez des enfants non vaccinés ne signifient pas primo-infection à bacilles tuberculeux virulents, mais une infection par des mycobactéries atypiques. Pour finir, il faut savoir que l'association simultanée des tuberculines humano-bovines donne avec les tuberculines de type aviaire des réactions fort différentes.

Les examens histologiques donnent des signes de tuberculose sans spécificité particulière vis-à-vis de la tuberculose humano-bovine et les infections à mycobactéries atypiques. Ils ne servent qu'à étayer le diagnostic en cas de découverte des bacilles atypiques.

1°) - FORMES CLINIQUES

a) Broncho-pulmonaires

Les signes cliniques et radiologiques de mycobactérioses quel que soit le germe en cause, ne sont pas différents des classiques symptômes de la tuberculose à bacilles humains ou bovins.

Les circonstances de découverte sont les mêmes que pour la maladie tuberculeuse classique, mais il semble que les hémoptysies soient plus fréquentes que pour le bacille de Koch ou bacille bovin. Chez les mineurs des mélanoptysies sont parfois révélatrices de l'infection.

La radiologie n'amène rien de spécial dans certains cas. La finesse des parois cavitaires, la discrétion des lésions rétractives et la rareté des épanchements pleuraux signalés par certains auteurs ne permettent pas une orientation diagnostic.

Chez le mineur, toutes les formes de complication peuvent être observées : lésions réticulo-nodulaires confluentes, pseudo-tumorales excavées ou non.

L'histopathologie en cas d'exérèse pulmonaire ne permet pas de distinguer les deux infections. L'hypertrophie de cellules de Langhans et une abondance de cellules astéroïdes et du corps de Schauman préconisés par certains auteurs n'apportent pas les meilleures solutions de diagnostic.

b - Les formes broncho-pulmonaires mixtes

1°) La première description de pneumoconio-mycobactériose chez les mineurs anthracosiques est due à PINER en 1935, GERNEZ-RIEUX, TACQUET, DEVULDER et DEBRUNYE (19) et FELDMANN en 1943. Beaucoup d'autres observations ont été signalées chez les polisseurs par DVORSKY en 1957, chez un fondeur par SCHAEFFER en 1958, chez un soudeur à arc par WOLINSKY en 1960, chez des mineurs de graphites par HIRSCH en 1959, chez des fondeurs de bauxite d'une usine d'aluminium par REINHOLD en 1962.

Les mycobactérioses chez les pneumoconiotiques ont été observées à LILLE d'après les travaux de l'Institut

Pasteur, de 1960 à 1967.

Les signes cliniques et radiologiques sont semblables à ceux rencontrés dans la pneumoconio-tuberculose, qui sont des lésions micronodulaires avec des lésions cavitaires parenchymateuses lobaires supérieures ou inférieures droites, plus souvent bilatérales. Parfois, on rencontre aussi un épanchement pleural. Ces infections sont souvent révélées par des hémoptysies ou mélanoptysies isolées ou associées à une altération de l'état général, plus amaigrissement important et une fièvre prolongée.

+ Diagnostic positif :

Il repose sur les signes cliniques et radiologiques qui vont en s'aggravant, et la découverte des bacilles atypiques dans l'expectoration en l'absence des bacilles humains ou bovins. Faire étayer le diagnostic par l'hypersensibilité cutanée aux extraits mycobactériens homologues.

L'examen histopathologique ne montre aucune particularité chez le pneumoconio-mycobactériose par rapport au pneumoconio-tuberculose.

Evolution

On ne doit pas seulement tenir compte des mycobactérioses, mais aussi des pneumoconioses associées étant donnée l'insuffisance respiratoire liée à cette maladie professionnelle. Il faut savoir que cette dernière maladie contribue pour une large part à l'exacerbation du processus tuberculeux, et d'autre part, à la formation des réactions fibreuses progressives compromettant les fonctions respiratoires du malade.

INFECTIONS MYCOBACTERIENNES MIXTES

Leur individualisation est justifiée par l'isolement répété concomittant ou successif de *Mycobacterium tuberculosis* d'une part, et la découverte de mycobactéries atypiques d'autre part, alors qu'aucun argument valable ne peut écarter le rôle joué dans la genèse du processus infectieux par ces dernières.

a) Infections mycobactériennes mixtes du malade non pneumoconiotique. 2 observations ont été étudiées par l'Institut Pasteur de LILLE. Chez 2 personnes âgées de 51 ans et 68 ans, porteuses de lésions pulmonaires infiltratives provoquées par l'association de *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium avium*. Dans le premier cas, les examens bactériologiques sont devenus négatifs après 6 mois, de traitement aux antibacillaires, mais persistaient des lésions pulmonaires suspectes d'évolutivité. Dans l'autre cas, la guérison a été obtenue au bout de 6 mois avec des séquelles radiologiques évocatrices de lésions de fibrose rétractile pulmonaire.

Infections mycobactériennes mixtes du malade pneumoconiotique.

L'observation porte sur 8 malades de 46 à 54 ans étudiés par le même laboratoire, travaillant dans les mines de charbon depuis 25 à 35 années atteints de pneumoconioses micronodulaires et confluentes pseudo-tumorales associées à une infection à bacilles humains et du *Mycobacterium kansasii*.

Chez 2 de ces huit malades, le *Mycobacterium kansasii* a disparu dans les produits pathologiques avant les bacilles tuberculeux humains. Chez les six autres, c'est le *Mycobacterium tuberculosis* qui a disparu avant le *Mycobacterium kansasii*. Chez trois de ces malades, il y a eu aggravation des lésions, chez les trois autres, l'infection à *Mycobacterium kansasii* s'est aggravée, d'évolution mortelle en deux à trois ans, ce qui veut dire que malgré le traitement la mort peut survenir à plus ou moins longue échéance. Ce fut le cas pour trois des

c - Formes ganglionnaires

Les mycobactérioses ganglionnaires se présentent sous forme d'adénites. C'est AGIUS en 1956 qui les a décrites pour la première fois, ensuite MASSON et PRISSICK en 1957, KEITH, WEED et NEEDHAN pendant la même année.

Plusieurs auteurs plus particulièrement des pédiatres se sont penchés sur cette étude : KAPLAN, GRUMBACH et DOBROWOLSKI en 1958, NOUFLARD, BRISSAUD, LACASSIE, COSTIL, GERBEAUX et ROUCHON en 1959, TACQUET, TISON, DEVULDER en 1965. 204 observations publiées dans le monde de 1956 à 1965.

Ce sont des enfants de moins de 4 ans qui sont atteints dans 50 % des cas, avec forte prévalence pour la fille que chez le garçon. Elles sont exceptionnelles chez l'adulte.

Aspect clinique

Dans 80 % des cas, ces adénites ont une localisation cervicale, le plus souvent maxillaire, prétragéenne, parotidienne ou axillaire, plus rarement inguino-crurale.

Les adénopathies profondes sont exceptionnelles et le diagnostic avec la sarcoïdose est discuté. Elles font partie du tableau de mycobactériose généralisée.

Le germe en cause est le *Mycobacterium scrofulaceum* et certaines mycobactéries du groupe aviaire. On a même trouvé le *Mycobacterium kansasii* mais dans 5 % des cas.

La porte d'entrée n'a jamais été affirmée avec certitude. Il s'agit peut-être d'atteinte du cuir chevelu, de l'oreille externe, du visage ou conjonctivale. La voie rhino-pharyngée est peu retenue.

La maladie se rencontre plus dans la campagne que dans les centres urbains où vivent des animaux infectés, et

dans les régions minières où sont fréquentes les pneumoconioses. La fistulisation se fait au bout d'un mois. Ces adénites sont généralement bénignes, curables.

L'isolement est assuré par la découverte des mycobactéries atypiques dans le suc ganglionnaire d'une adénopathie non fistulisée. Cette étude doit être étayée par un examen histologique et surtout hyperergique cutanée aux sensitines homologues, avec de faibles degrés d'allergie tuberculinique humaine et bovine.

Formes cliniques d'adénites à mycobactéries atypiques

- 1. Selon le germe :

Le *Mycobacterium scrofulaceum* atteint les enfants jeunes, ne dépassant pas 3 ans. La prépondérance féminine ne se retrouve pas partout, mais elle est très nette dans certaines séries.

- 2. Forme Battey-aviaire

Elle atteint les enfants plus grands, voire des adultes : 36 % des enfants de moins de 3 ans. La prépondérance féminine est remarquable.

Les adénites sont plus souvent axillaires ou inguinales que cervico-mentonnières. On rencontre dans cette forme des adénopathies profondes.

- 3. Formes associées

Avec le bacille de Koch ; la maladie de griffes à chat ; cancer pulmonaire ; maladie de Hodgkin le diagnostic est difficile.

- 4. Adénites profondes

Les adénopathies trachéo-bronchiques font discuter le diagnostic avec la sarcoïdose, surtout s'il existe des

sarcoïdes histologiquement et biologiquement positives avec découverte concomitante de mycobactéries atypiques.

Certains auteurs qualifient cette présence d'opportuniste, mais on rencontre cependant des adénopathies trachéo-bronchiques et mésentériques à mycobactéries atypiques démontrées histologiquement après intervention.

CONCLUSION

Maladie confondue il y a 20 ans avec l'adénite à bacilles humano-bovins ; actuellement, les adénites à mycobactéries atypiques sont fréquentes.

d - Les formes urinaires

La seule observation clinique a été rapportée par ENGBAECK en 1967. Le germe causal était le *Mycobacterium xenopi*. La clé du diagnostic est une épididymite associée, dont l'examen histologique a mis en évidence les lésions rappelant la tuberculose.

e - Formes cutanées :

a) Les abcès froids à *Mycobacterium fortuitum* sont dus à des fautes d'asepsie lors d'infections thérapeutiques. Leur évolution est lente, la guérison est rapide après drainage.

b) Les ulcérations ont été décrites pour la première fois par LINEL et NORDEN en 1954, quand ils décrivent des petites ulcérations cutanées et des granulomes chez certains sujets qui s'étaient baignés dans une même piscine ou eau de lavage. D'autres observations ont été publiées à ce sujet.

L'ensemble de ces lésions (nodules, ulcérations, ulcères, pseudo-tuberculeux) ne montrent qu'une caséification limitée, évoluant lentement. On y trouve jamais de bacilles tuberculeux appartenant à l'espèce humano-bovine, mais plutôt on y rencontre des staphylocoques qui doivent être pris pour des germes de surinfection.

Sur le plan épidémiologique, les mycobactérioses cutanées sont exceptionnelles en France. Le germe responsable est le Mycobacterium balnei trouvé dans les lésions que nous avons citées. Elles sont par contre fréquentes dans certaines régions d'Afrique, d'Australie, de la Nouvelle Guinée et du Mexique. Le germe responsable est le Mycobacterium ulcerans trouvé dans des lésions expansives et nécrotiques atteignant parfois les muscles et les os, nécessitant un traitement antibacillaire suivi de greffes cutanées ou osseuses. Certains métiers exposent à l'infection comme l'aquarium, l'élevage des poissons en pays tropicaux. Le diagnostic échappe parfois au médecin et le malade l'ignore. C'est l'interrogatoire qui éclaire le diagnostic.

La voie de pénétration est soit la plaie ulcérée, soit des blessures par des instruments. Les lésions sont des granulomes ou nodules rougeâtres fluctuants et ulcérés, soit des lésions verruqueuses. Le siège est de préférence aux endroits exposés.

f - Formes osseuses

Les lésions osseuses dues aux mycobactérioses sont délabrantes et chroniques. Les ostéites sont heureusement rarissimes WEED, KARLSON, JUIN et MILLER en 1956, CHAPMAN en 1967. Le germe en cause est le Mycobacterium kansasii, le Mycobacterium avium ou mycobacterium scrofulaceum.

OSTEOMYELITES GENERALISEES

La localisation osseuse intéresse les os plats, les côtes, le crâne, l'omoplate, mais aussi les os longs des membres, les petits os des pieds et des mains, les vertèbres.

Cliniquement, elles se traduisent par des tuméfactions souvent douloureuses qui évoluent vers la fistulisation avec un écoulement interminable. Elles sont souvent uniques ou multiples atteignant parfois tous les os.

Radiologiquement, elles se traduisent par des zones de raréfaction osseuse.

L'évolution peut être aiguë ou extrêmement lente s'étendant sur de nombreuses années, 11 et plus (WEED). On peut voir quelquefois des rémissions d'un an et davantage pour les voir réapparaître sur d'autres os ensuite.

g - Les formes généralisées

Elles sont exceptionnelles. Une analyse internationale bibliographique a permis d'en colliger 22 cas dont 1 cas à LILLE. Elles atteignent plus l'enfant que l'adulte. Le germe responsable est le *Mycobacterium kansasii* et le *Mycobacterium avium*, plus rarement le *Mycobacterium scrofulaceum*.

Aspect clinique

Fièvre folle, une hépatosplénomégalie, des adénopathies, à la radio on observe parfois des lésions nodulaires et miliaires.

A l'examen, on constate une anergie tuberculinique et la fréquence remarquable des manifestations hématologiques trompeuses faisant penser à l'hypersplénisme, à la lymphogranulomatose, à la leucémie myéloïde, au lymphosarcome, voire à l'histoplasmosse, et si le traitement aux corticoïdes ou aux antimitotiques est institué, on précipite rapidement l'évolution de cette forme de mycobactériose. En conséquence, s'il y a des doutes, il faut faire une hémoculture pour rechercher les mycobactéries atypiques et prescrire un traitement antibacillaire adéquat.

h - Autres formes

Granulomes laryngo-pharyngés, des épидidymites, des abcès spinaux, des ulcérations cornéennes à *mycobacterium fortuitum*.

2°) ATTEINTES DES SÈRES

Les pleurésies sont fréquentes accompagnant des lésions pulmonaires. Des méningites ont été signalées, des péri-

VII - EVOLUTION ET PRONOSTIC

L'évolution défavorable spontanée de mycobactérioses traitées est exceptionnelle, étant données que ces infections sont rigoureusement sanctionnées par une thérapeutique adéquate.

Non traitées, la mort survient au bout d'un an, par exemple pour une infection pulmonaire à *Mycobacterium scrofulaceum* ou *kansasii*.

L'évolution sous le traitement médical est fonction de l'espèce mycobactérienne responsable de la maladie, et plus particulièrement de la sensibilité du germe aux antibiotiques utilisés.

1°) INFECTIONS A MYCOBACTERIUM KANSASII

Un traitement bien conduit et prolongé amène la guérison, mais l'évolution peut être fâcheuse chez des malades ayant des tares organiques comme les diabétiques, les cirrhotiques, etc...).

Une statistique récente de JOHANSON et NICHOLSON qui ont eu le mérite de rencontrer 90 malades traités et suivis pendant 1 à 11 ans (3 ans en moyenne) permet de retenir les résultats suivants :

- a) Négativation des examens bactériologiques dans 81 % des cas, dont 74 % dans une période de 6 mois.
- b) Fermeture des images cavitaires sous traitement chez 52 malades sur 79, soit 66 % des cas.
- c) Guérison obtenue avec un traitement médico-chirurgical dans 23 cas sur 90.
- d) Décision de reprise de travail après 1 an de traitement dans 62 % des cas de nos malades ou davantage.
- e) Absence de négativation bactériologique dans 19 % des cas malgré le traitement spécifique d'une durée moyenne de 30 mois.
- f) Rechute dans 8 % des cas avec élimination des bacilles dans les crachats
- g) Aggravation des signes radiologiques dans 12 % des cas.
- h) 11 décès non liés aux mycobactérioses, sauf 2 cas seulement.

Ces résultats sont dus à la sensibilité du *Mycobacterium kansasii* à plusieurs substances antibacillaires, notamment à la Rifampicine, Cyclosérine, à l'Ethionamide, à la Thiocarbanilide et à l'Isoniazide.

2°) INFECTIONS À MYCOBACTERIUM DU GROUPE AVIAIRE

Quelle que soit l'espèce causale, le *Mycobacterium aviaire* vrai (*Myc. avium*) ou par le *Mycobacterium intracellulare*, les infections dues à ces germes comportent un pronostic plus sombre que celles du *Mycobacterium kansasii* à cause de

la très faible sensibilité naturelle des souches infectantes aux substances antibacillaires dans la plupart des cas.

Une observation portant sur 4 malades âgés de 31 à 66 ans, traités seulement pendant 4 à 11 mois, ne rapporte aucun résultat favorable.

3) INFECTIONS A MYCOBACTERIUM XENOPI

Bien qu'appartenant au groupe des mycobactéries aviaires à cause des propriétés biochimiques et enzymatiques identiques à celles du *Mycobacterium avium* et intracellulare, le *Mycobacterium xenopi* mérite d'être considéré comme susceptible de provoquer chez l'homme des infections pulmonaires beaucoup plus bénignes et moins fréquentes que celles provoquées par *Mycobacterium aviaire* et *Mycobacterium intracellulare*.

4) INFECTIONS A MYCOBACTERIUM SCROFULACEUM ET MYCOBACTERIUM GORDONAE

Les infections pulmonaires dues à ces espèces sont heureusement exceptionnelles, étant données que ces infections comportent un pronostic redoutable lié à la faible sensibilité de ces bacilles aux antibiotiques utilisés.

2 observations rapportées :

- 1 malade décédé en un an par refus de traitement
- 1 autre soumis pendant deux ans au traitement sans succès.

5) INFECTIONS A MYCOBACTERIUM FORTUITUM

Elles sont exceptionnelles et très résistantes aux antibacillaires. Quelques lésions sporadiques ont été observées (pneumopathies subaigües ou chroniques).

VIII TRAITEMENT DES MYCOBACTERIOSES
ET PROPHYLAXIE

1 - TRAITEMENT

En présence de diagnostic de mycobactériose authentifiée par respect des critères que nous venons d'énoncer dans ces chapitres, il est raisonnable de réaliser un traitement médical comportant les substances antibacillaires avec triple antibiothérapie basée sur l'antibiogramme répété.

Il faut avant l'antibiogramme recourir aux substances antibacillaires connues pour leur habituelle activité in vitro sur un grand nombre de souches de l'espèce mycobactérienne isolée.

Une étude récente effectuée par l'Institut Pasteur de Lille sur la sensibilité à 11 substances antituberculeuses de 102 souches de *Mycobacterium Kansasii*, 205 souches de *Mycobacterium* du groupe aviaire et 142 souches de *Mycobacterium aquae* et *scrofulaceum*, a montré que la rifampicine et la cycloserine sont actuellement les médicaments de choix in vitro sur le grand nombre sauvage de chacune de ces espèces de mycobactéries atypiques. Le *mycobacterium Kansasii* est aussi sensible à d'autres substances souvent à l'isoniazide, l'éthionamide, la thiocarbonilide et la thiocéthazone.

DADDI (56) a montré la sensibilité de quelques unes d'entre elles à la Doxycycline et à la Gentalline.

D'autres sont insensibles au traitement médical comme le *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium avium* et le *Mycobacterium scrofulaceum*. L'espoir de guérison est souvent fondé sur le traitement chirurgical après échec du traitement médical. L'exérèse des lésions localisées soit ganglionnaires, soit pulmonaires constitue souvent la seule solution thérapeutique. Cette indication doit être sérieusement discutée.

a) Traitement des mycobactérioses pulmonaires :

Les mycobactérioses pulmonaires provoquées par le *Mycobacterium kansasii* comportent heureusement un pronostic favorable, cette espèce étant sensible à plusieurs produits dont nous disposons en thérapeutique antituberculeuse.

Par contre, celles provoquées par le *Mycobacterium avium*, le *Mycobacterium intracellulare* et le *Mycobacterium scrofulaceum* ne permettent pas souvent une bonne guérison. Le recours à la chirurgie exérèse est le seul moyen à notre disposition, mais là aussi, les chances de la pratiquer et de guérison sont limitées à cause de l'étendue initiale des lésions pulmonaires et l'insuffisance respiratoire chez les malades pneumoconiotiques.

Hormis les contre-indications, l'acte chirurgical en matière de mycobactériose pulmonaire incurable par l'antibiothérapie demeure cependant l'excellente solution et ne doit abusivement être différée. Il est permis, en cas d'aggravation ou d'absence de régression des lésions radiologiques, en cas de persistance des bacilles dans les crachats après 6 mois de traitement médical bien conduit.

b) Traitement des mycobactérioses ganglionnaires :

Les médicaments les plus actifs sont la Cyclosérine

et l'Ethambutol qui peuvent parfois donner des suites favorables si l'antibiogramme le fait espérer.

Parfois on utilise le traitement antituberculeux ordinaire I.N.H. streptomycine P.A.S. avec l'espoir qu'ils ont une certaine activité et pour mettre à couvert au cas où il y aurait une tuberculose humano-bovine associée et méconnue.

Récemment, la découverte de l'activité du Lampirène (B 663) sur les bactéries du groupe Battey aviaire a donné un certain espoir, mais aussi des déceptions. C'est surtout la Rifampicine qui est actuellement le médicament de choix.

La Corticothérapie

Elle n'est pas cautionnée par tous les auteurs. Les uns ont obtenu des résultats satisfaisants, les autres ont observé des phénomènes rebond avec fistulisation, mais ceux qui l'ont fait n'ont pas rapporté d'ennuis graves chez leurs patients.

SENSIBILITE DES MYCOBACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES ANTIBACILLAIRES

ESPECES MYCOBACTERIENNES	SENSIBILITE AUX ANTIBACILLAIRES			RESISTANCE
	Fréquente	Parfois sensible	variable selon la souche	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> humain et bovin	Tous (1)			
<i>Mycobacterium kansasii</i>	Cyclosérine Ethionamide Pyrozinamide Tb1 Ethambutol Rifampicine			I.N.H Streptomycine P.A.S. Kanamycine
<i>Mycobacterium marinum</i>	Cyclosérine Kanamycine Ethionamide Rifampicine Ethambutol			I.N.H Streptomycine P.A.S Tb1
<i>Mycobacterium gordonae</i>	Cyclosérine Tb1 (2)	Rifampicine	Ethionamide Ethambutol	I.N.H. Streptomycine P.A.S Kanamycine Pyrozinamide
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	Cyclosérine Tb1	Ethionamide Rifampicine Ethambutol		I.N.H Streptomycine P.A.S Kanamycine Pyrozinamide Viomycine
<i>Mycobacterium avium</i>	Rifampicine (3)		Kanamycine Ethionamide Tb1	I.N.H Streptomycine P.A.S Cyclosérine Ethambutol
<i>Mycobacterium xenopi</i>	Streptomycine (3) Cyclosérine (3) Ethionamide (3)			I.N.H P.A.S Pyrozinamide Tb1 Rifampicine Ethambutol
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Streptomycine (3) Cyclosérine Ethionamide Tb1 Rifampicine			I.N.H P.A.S Kanamycine Ethambutol
<i>Mycobacterium ulcérans</i>	Streptomycine Cyclosérine Kanamycine Rifampicine			I.N.H P.A.S Ethionamide Tb1 Ethambutol
<i>Mycobacterium fortuitum</i>				Tous Kanamycine (4) Ethionamide (4)
<i>Mycobacterium phlei</i>	Streptomycine Ethambutol Rifampicine Cyclosérine			I.N.H Ethionamide Tb1
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Streptomycine Kanamycine Ethambutol			I.N.H P.A.S Ethionamide Tb1 Rifampicine
<i>Mycobacterium chelonae</i>			Ethionamide	Tous

(1) Sauf Pyrazinamide pour le *Mycobacterium bovis* (R)
INHR pour le bacille humain et *Bovis thiosemicarbanilide*
pour *Mycobacterium tuberculosis* variété Africaine.

(2) Sensible ou intermédiaire

(3) Sensible ou résistant

(4) Résistant ou sensible

L'intervention

La chirurgie excérèse donne de bons résultats, sauf inconvénients locaux, risque de blessures vasculaires, du nerf facial et persistance d'une cicatrice inesthétique.

Avant le recours à la chirurgie, il faut, selon certains auteurs, la corticothérapie, et réserver l'indication opératoire en cas d'évolution traînante malgré la thérapeutique.

Après l'intervention, poursuivre le traitement médical au moins 12 mois, ce qui permet d'éviter l'apparition de l'évolution chronique éventuellement fistulisation inesthétique parfois des récurrences.

c - Traitement des mycobactérioses osseuses, sanguines, et cutanées :

Ces formes sont exceptionnelles pour définir le traitement et requièrent à cause de leur gravité très particulièrement redoutable, une polychimiothérapie antibacillaire puissante et minutieusement adaptée aux résultats donnés par l'antibiogramme systématique et complet. Les mycobactérioses osseuses demandent parfois le recours à la chirurgie. Certaines mycobactérioses cutanées nécrosantes nécessitent la réalisation de nombreuses greffes de peau.

2) PROPHYLAXIE

La prophylaxie des mycobactérioses semble encore difficile à réaliser, surtout pour les formes pulmonaires pour lesquelles la voie de pénétration s'avère encore obscure et insuffisamment connue.

Cependant, nous disposons de quelques armes :

- le BCG garde encore son intérêt
- le traitement de mycobactérioses bien adapté permet la guérison des formes déclarées. Pour cela, le diagnostic doit être clinique, biochimique, bactériologique et allergologique par le sérum homologue.

Pour ce qui concerne les mycobactérioses cutanées, une série de mesures est en cours et conseillée par ceux qui ont observé des épidémies de granulome de piscine HIRLITZ - LINEL - NORDEN - MOLLOHAN - PHILPOTT - THOMAS et WADINGTON - RES et BINET, Ces auteurs exigent le pavage par des carreaux lisses pour diminuer la possibilité d'abrasion cutanée dans les piscines. Les vieilles piscines doivent être retravaillées, sinon détruites entièrement. On avait préconisé comme prophylaxie l'utilisation dans ces piscines d'eau chlorée, mais ces moyens paraissent insuffisants. Les travaux d'EILERSTEN font apercevoir que le taux d'hypochlorite nécessaire pour tuer les *Mycobacterium balnei* rendrait incompatible l'utilisation habituelle d'une piscine.

Pour le *Mycobacterium ulcerans*, le traitement des plaies et blessures des équarrisseurs et éleveurs des poissons ; les aquariums doivent être nettoyés régulièrement.

Nous croyons que les études ultérieures des mycobactéries atypiques augmenteront les moyens de lutte de ces mycobactéries dont l'accroissement devient de plus en plus grand, en faveur de la disparition progressive de la maladie tuberculeuse.

IX - OBSERVATIONS PERSONNELLES

Melle DAR... Claire, 86 ans, retraitée est hospitalisée dans le service de Pneumophtisiologie au C H U d'Amiens, du 29 Décembre 1972 au 29 Janvier 1973, pour tuberculose pulmonaire due aux bacilles tuberculeux, découverte en date du 21 Décembre 1972.

Cette maladie a été adressée dans le service du Professeur LEVI-VALENSI par l'hospice St-Charles où la malade poursuivait déjà depuis 3 mois un traitement antibacillaire institué sur base radiologique et allergologique.

Au début de la maladie, l'état général était bon. La malade n'avait pas maigri et pesait 42 kgs. Elle ne toussait pas et n'était pas dyspnéique.

Les examens de laboratoire sont normaux, sauf une discrète anémie à 3 700 000 G.R. associée à une faible augmentation des transaminases.

Les critères d'orientation du diagnostic ont été la radiographie systématique effectuée à l'hospice le 28 Septembre 1972 et les radiotomographies pratiquées à la même époque, qui montraient des lésions importantes du lobe supérieur gauche limitées vers la base par des zones d'atélectasie qui semblaient construites et d'allure ancienne. Au niveau de l'apex on remarquait plusieurs images nodulaires plus ou moins régulières associées à des fibroses et des travées broncho-vasculaires. Etant donnée l'absence d'antécédents de bacillose

chez cette patiente, le diagnostic de tuberculose évolutive est retenu, et une triple antibiothérapie est instituée, comportant : la Rifadine, le Rimifon et le Myambutol.

Les 19, 20 et 21 Décembre, la bacilloscopie montre la présence dans les crachats de bacilles acido-alcoolorésistants. La culture révèle qu'il s'agit d'une espèce scotochromogène et l'identification ultérieure (20.4.1973) montrera qu'il s'agit du *Mycobacterium xenopi* résistant aux antibacillaires que nous possédons, sauf à la Kanamycine.

Les examens suivants ne seront pas positifs. Un examen radiologique effectué en même temps révélera que les lésions n'ont pas évolué au détriment de l'aggravation de l'état général, ce qui a fait décider l'hospitalisation dans le service de Pneumophtisiologie, et faute de mieux, le traitement antibacillaire ne sera pas changé.

Elle quitte l'hôpital le 29 Janvier 1973 pour continuer son traitement à l'hospice qui nous l'avait adressée. On devrait revoir en consultation Melle DAR... Claire le 12 Mai 1973 pour un bilan. Elle n'attendra pas cette date, car notre malade sera admise d'urgence le 24.04.1973 pour insuffisance respiratoire avec coeur pulmonaire aiguë, associée à une anémie inexpliquée cliniquement.

La réanimation intensive n'empêche pas l'issue fatale. Le décès survient le 25 Avril 1973 dans un tableau de collapsus soudain.

Melle JOU... Henriette, 56 ans, est admise au CHU d'Amiens, le 16 Juillet 1973, pour une cachexie intense avec amyotrophie, amaigrissement de 8 kg, des oedèmes des membres inférieurs et des plaies diffuses. La malade présente en outre des évanouissements très fréquents.

On trouvera dans ses antécédents, une dépression nerveuse qui a nécessité l'hospitalisation en milieu psychiatrique, mais pas de bacillose.

La radiographie montre des lésions pulmonaires infiltratives diffuses dans les deux champs avec prédominance gauche.

Les examens de laboratoire sont perturbés dans leur ensemble.

Hématologie : GR 3 600 000 Ht 30 hb 63 V.G. 0,87 GB 1 5 000 N 51 E 1 B 0 L 47 M 1 TP 55 %

Biochimie :

Na 152

K 3,6

Co 3H -18

Urée 1,62

Glycérine 1,24

Protides 58

Ca 77 mg

Cholestérol 0,77 g

Bactériologie

Le prélèvement de pus des plaies montre des bacilles pyocyaniques, des aerobacters et des citrobacters.

L'hémoculture montre des *Escherichia coli* des aerobacters et des citrobacters.

L'uroculture montre des *Pseudomonas aeruginosa* dans les urines. La recherche des bacilles tuberculeux est positive. Trois tubages gastriques du 21, 22 et 23 Juillet 1973 montrent de nombreux bacilles acido-alcool-résistants.

La culture montre de nombreuses colonies de bacilles scotochromogènes.

L'identification du 20.10.73 révèle qu'il s'agit de *Mycobacterium xenopi*.

La malade a été mise dès le début au Pyopen 2g, Gentalline 0,60 mg x2, Keflin I.V. 4g, Plastenan. Cette thérapeutique a été associée à une réanimation intensive. Malheureusement aucune thérapeutique antibacillaire n'a été faite. La malade est décédée le 23 Juillet dans un tableau d'infection grave avec acidose métabolique.

Mlle CHAT... Patricia, sans profession, 19 ans, est hospitalisée du 5 Février 1973 au 14 Février 1973, dans le service de Pneumophtisiologie au CHU D'Amiens.

Comme antécédents on ne trouve que des angines répétées ; J.D.R. est positive, mais la malade a été vaccinée dans son enfance.

Sur le plan clinique, des douleurs sous-scapulaires gauches, une hyperthermie à 38°9, une asthénie et une anorexie. Elle tousse et présente une expectoration muco-purulente peu abondante.

L'auscultation révèle quelques râles humides. La radiographie est normale et le diagnostic d'état grippal est porté. On décide alors un traitement anti-infectieux comportant de la Gentalline, du Keflin et puis de la sigmamycine et Rhinathiol avec défervescence de la température en 24 heures et amendement de la symptomatologie précitée.

Les examens de laboratoire ont montré une V.S. élevée à 23-62.

La bascultoscopie révèle en un seul prélèvement des bacilles acido-alcool-résistants.

La culture montre qu'il s'agit des espèces scotochromogènes, et l'identification effectuée le 20.4.1973 révélera que les germes sont des mycobactéries atypiques, espèce *Mycobacterium xenopi*. Vu l'amélioration de l'état général et la disparition des symptômes de la maladie, le diagnostic d'une mycobactériose ne sera pas retenu, mais plutôt pris pour un germe de souillure. La malade sort le 14 Février 1973 avec une couverture antibiotique. Il faudra toutefois la surveiller.

Mme CAU... Hélène, 80 ans, habite l'hospice St Victor depuis le 19 Septembre 1968. Elle est atteinte de bronchite chronique, tousse avec crachats muco-purulents abondants.

Le tubage gastrique du 2 Mars 1973 ne montre pas de bacilles acido-alcool-résistants à l'examen direct, mais la culture est positive avec colonies scotochromogènes. L'identification du 20.4.1973 révèle qu'il s'agit du *Mycobacterium xenopi*. La radio ne montre pas de signes de tuberculose.

La maladie a été traitée à chaque poussée de bronchite chronique par des antibiotiques ordinaires et antitusifs. Son état actuel est satisfaisant.

X - CONCLUSION

Les progrès de la technique bactériologique permettent maintenant d'identifier à côté du bacille de la tuberculose, d'autres mycobactéries.

Après reconnaissance du germe du genre mycobacterium par les méthodes de coloration employées dans les laboratoires de microbiologie, il faut, si l'on soupçonne la présence d'une mycobactérie atypique dans le produit pathologique examiné, procéder à son identification qui doit porter sur :

1) LES CARACTERES CULTURAUX.

- a) La vitesse de croissance, sachant qu'il existe des souches à croissance rapide (eugoniques), et des souches à croissance lente (dyagoniques).
- b) La pigmentation des colonies qui peuvent être soit photochromogènes, soit scotochromogènes ou non chromogènes.
- c) L'aspect des colonies. Leur aspect est soit rugueux, soit lisse ou lisse humide. Parfois, les colonies sont mates, plates avec bourgeon.

On complètera cette étude de caractères cultureux par l'évaluation de la température optimale de croissance, étant donnée la sensibilité très variable des mycobactéries à la température des milieux où elles cultivent. C'est ainsi que *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* et BCG poussent à 37°C,

alors que *Mycobacterium xenopi* cultive à une température optimale de 42°C, mais il est aussi susceptible de pousser à 30 ° C et à 50° C.

2) L'ETUDE DES CARACTERES BIOCHIMIQUES ET ENZYMATIQUES.

Plusieurs réactions chimiques et plusieurs enzymes sont employés aujourd'hui. Les résultats sont variables selon la technique et la souche mycobactérienne.

Les techniques les plus employées sont :

- l'extraction de l'acide nicotinique (niacin test)
- la sensibilité au T.C.H. ou B.S.H.
- la réduction des nitrates en nitrites
- la réduction de la catalase, les lipases et estérases
- la réduction des nitrates et nitrites en surface
- la transformation de citrate de fer ammoniacal.

Il faut parfois continuer l'investigation par l'étude de l'activité amidasique, la mise en évidence de la peroxydase, la recherche de la Beta galactosidase, la recherche de l'activité arylsulfatique, la recherche des phosphates acides, l'étude de l'utilisation des hydrates de carbone, et, si c'est nécessaire, l'étude de la sensibilité à certaines substances antibacillaires.

Les résultats sont représentés dans le tableau des caractères culturels, biochimiques et enzymatiques des mycobactéries.

Dans les laboratoires spécialisés, l'identification précise des mycobactéries atypiques est complétée par des méthodes immunologiques (agglutination, déviation du complément

et immunofluorescence).

Quelquefois, il sera nécessaire d'inoculer le germe à l'animal d'expérience qui peut être le lapin, la souris ou le hamster, et la poule selon la souche.

Leur pouvoir pathogène est très divers.

En pathologie humaine, le diagnostic repose sur la découverte des lésions histopathologiques de tuberculose, et surtout par la constatation des réactions cutanées tant vis-à-vis d'extrait de mycobactéries homologues que vis-à-vis des tuberculines humano-bovines.

Les lésions fréquemment rencontrées sont les suivantes :

1°) les mycobactérioses pulmonaires ont été observées partout dans le monde, mais avec un indice plus élevé aux ETATS-UNIS. Dans le Nord de la France, ces infections concernent 0,28 % des tuberculeux. Les germes responsables sont : *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare* et plus rarement *Mycobacterium fortuitum*.

Ces mycobactérioses ne possèdent aucun signe clinique permettant de les différencier avec la tuberculose humano-bovine. La radiologie n'apporte rien de spécial. Le pronostic est souvent assombri par la faible sensibilité naturelle de ces germes aux antibacillaires, ou aggravé par la faiblesse de l'organisme infecté (sujet pneumoconiotique par exemple). Quelquefois, une chirurgie d'exérèse est nécessaire, surtout en cas d'échec de la thérapeutique médicale (Rifampicine, et à moindre degré la Cyclosérine).

2°) les mycobactérioses ganglionnaires affectent généralement le jeune enfant de moins de 4 ans, mais certaines formes peuvent

atteindre l'adolescent voire l'adulte (formes Battey-Aviaries). Les germes responsables de ces infections sont : *Mycobacterium scrofulaceum* et parfois *Mycobacterium kansasii*.

La guérison de ces adénites est constante après traitement aux antibacillaires plus les corticoïdes ou traitement médico-chirurgical qui permet d'éviter les fistulisations.

Les adénopathies profondes font discuter le diagnostic avec la maladie de Besnier Boeck Schaumann.

3°) les mycobactérioses cutanées se présentent sous deux formes distinctes :

- . En Europe, il s'agit de granulome et de petites ulcérations cutanées attrapées dans les piscines ou l'eau de lavage infectée par *Mycobacterium BALNEI*.

- . En Afrique, Australie, Mexique et Nouvelle Guinée, on rencontre des ulcérations cutanées délabrantes et nécrotiques provoquées par *Mycobacterium Ulcéraans*.

4°) les mycobactérioses osseuses sont heureusement rares. Elles se présentent sous formes d'ostéites chroniques délabrantes, avec un écoulement interminable. Des formes d'ostéite généralisée ont été rapportées. Les germes en cause sont : *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium avium* et *Mycobacterium scrofulaceum*.

5°) les mycobactérioses urinaires sont exceptionnelles. Un seul cas a été rapporté. Le germe responsable était : *Mycobacterium xenopi*.

6°) les mycobactérioses généralisées sont exceptionnelles aussi. 22 cas dans la bibliographie. Elles sont de diagnostic difficile à cause de la communauté des signes cliniques avec les autres maladies rencontrées en médecine hospitalière. L'hémoculture est

nécessaire en cas de doute.

Nous ne ferons que citer les autres formes de mycobactériose qui sont beaucoup plus rares. Ce sont : des pleurésies, des méningites, des péricardites, et des péritonites, des granulomes pharyngo-laryngés, des épидidymites, des abcès spinaux et des ulcérations cornéennes.

Sur ces bases, nous venons de voir que les mycobactérioses humaines constituent une entité pathologique nouvelle. La lutte antituberculeuse engagée par l'O.M.S. devient très difficile vue l'accroissement progressif de ce genre d'affection dans le monde naturel et chez les animaux comme chez l'homme. Dans certains cas, elles se manifestent sous formes d'épidémies très sporadiques.

Cette diffusion est affirmée à la fois par les isoléments bactériologiques effectués à partir des échantillons de sol, d'eaux usées, de produits alimentaires, de viandes (porcins et bovidés) et par des enquêtes épidémiologiques qui ont montré la fréquence croissante des mycobactérioses dans de nombreuses régions du globe. Cette étude a été étayée par la recherche de l'allergie cutanée aux SENSITINES et aux extraits homologues de ces mycobactéries.

Les cliniciens, les bactériologistes et les épidémiologistes doivent multiplier leurs efforts pour étudier ce problème car les mycobactérioses sont déjà des maladies couramment rencontrées et les bacilles atypiques ne sont pas si atypiques qu'on le croit aujourd'hui.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ANDREJEW A., KWIEK S., GERNEZ-RIEUX C.
Différents types d'activité catalasique chez les mycobactéries.
Ann. Inst. Pasteur 1964 107 503 - 519.

- 2 - AMOODRU C., CLAEYS C., DRIEU-GERVOIS F.
Epidémiologie des mycobactéries atypiques (MA) chez les mineurs pneumoconiotiques du bassin du Nord et du Pas de Calais.
Lille Méd. Pathol. Thorac. 1970 15-298-303.

- 3 - BATES J.H. (N°29)
A study of pulmonary disease associated with mycobacteria other than mycobacterium tuberculosis clinical characteristics I. XXe Report of the Veterans Administration Armed Forces Cooperative Study on the chemotherapy of tuberculosis.
Amer. Rev. Resp. Dis. 1967 96 1151 - 1157.

- 4 - BOISVERT H.
Identification des mycobactéries par la recherche de l'acide nicotinique.
Soc. Fr. Microb. 1960 99 600-607.

- 5 - BOISVERT H.
Identification des mycobactéries par la recherche de réduction des nitrites.
Ann. Inst. Pasteur 1961 100 352 - 357.

6 - BRETEY J., BOISVERT H.

Mycobacterium xenopi agent de l'affection pulmonaire et contaminant.

Rev. Tuberc. Pneumol. 1968 33 337 - 348.

7 - BRETEY J., JAHAN M.T.

La culture en atmosphère confiné des mycobactéries ensemencées en profondeur. Application à la mesure accélérée des résistances.

Ann. Inst. Pasteur 1971 35 110 - 120.

8 - CANETTI G.

Infection à mycobactéries atypiques et immunité antituberculeuse.

Lille Méd. Path. Thor. 1970 15 280-282.

9 - CARRET J.M.

Inventaire des mycobactéries atypiques de l'environnement. Leur mise en évidence, leur identification et leur rôle épidémiologique éventuel.

Thèse de Lyon 1973.

10 - CHAPMAN J.S.

Le rôle du lait et du bétail dans l'épidémiologie des affections à mycobactéries atypiques.

Rev. Tuberc. Pneumol. Fr 1970 34 17 - 24.

11 - CHOI C.S., ROYAL W., FRANCIS J.

The anticomplement fluorescent antibody technic for the identification of mycobacteria.

Tubercle 1971 52 148 - 150.

12 - DEBRUNYE J.

Bactériologie et classification des infections humaines à mycobactéries atypiques.

Gaz. Méd. 1971 78 1305 - 1318.

- 13 - DELAVERGNE E., LAMY P., ANTHOINE D., VAILLANT G.,
MONNEAU J.C., et Melle IMBS M.A.

Difficultés d'apprécier le pouvoir pathogène chez
l'homme des mycobactéries atypiques. A propos
de deux observations concernant le *Mycobacterium*
kansasii.

Lille Méd. Path. Thorac. 1970 15 328 - 333.

- 14 - DESBORDES J., FOUYE G.

Enquête allergologique régionale sur les mycobac-
téries. Difficultés. Premiers résultats.

Rev. Tuberc. Pneumol. 1971 35 110-120.

- 15 - DEVULDER B.

Les mycobactérioses. Collection Le Petit.

Rev. Resp. Inst. Pasteur 1971 2 127 -166.

- 16 - GERBEAUX J. - JOLY C.H.

Six cas d'infections probables apparentes par les
mycobactéries atypiques chez l'enfant.

Arch. Fr. Péd. 1967 23 1167.

- 17 - GERBEAUX J., BROCARD, ISRAEL - ASSELAIN C.,
LE LIRZIN M., TACQUET A., THIBIER R., BOISVERT H.,
GRAVELEAU D., MEYER B., UZZAN D.

Table ronde sur les infections à mycobactéries aty-
piques chez l'enfant et chez l'adulte.

Coh. du Collège de Méd. 1969 10 119 -143.

- 18 - GERNEZ-RIEUX Ch., TACQUET A., MACQUET V.

Etude expérimentale et pouvoir pathogène pour l'ani-
mal de laboratoire par les mycobactéries atypiques.
Influence du virus grippal et du virus quartz sur
les infections expérimentales.

Ann. Instit. Pasteur 1958 51 - 9-28.

- 19 - GERNEZ-RIEUX CH., TACQUET A., DEVULDER B.,
DEBRUNYE J.

Les mycobactérioses humaines. Méthodes actuelles de diagnostic clinique bactériologique, épidémiologique et thérapeutique. XIVe Congrès National de Tuberculose et des maladies respiratoires de Bordeaux 1970.

Masson Cie Edit. 1970.

- 20 - GERNEZ-RIEUX Ch., TACQUET A., COLLET A.,
DEVULDER B.

Empoussiérage pulmonaire et infections expérimentales par *Mycobacterium kansasii*.

Influence de diverses substances antituberculeuses. Path. Biol. 1966 14 -16/17 - 18 782 - 798.

- 21 - GERVOIS M.S., LAROCHE G., DELMOTTE J.S.,
BOUCHE E., DINAUT J.C.

Sensibilité tuberculinique non spécifique dans le Nord de la France.

Lille Méd. Path. Thorac. 1970 15 304-322.

- 22 - GRIMPL F.

Classification des mycobactéries par les méthodes immuno-chimiques.

Rev. Tuberc. Pneum. 1970 34 59 - 68.

- 23 - GRZYBOWSKI S.

Infection with unclassified mycobacteria as a cause of false tuberculin sensitivity.

Amer. Rev. Resp. Dis. 1969 99 378-382.

- 24 - HAJOS K., JUHAZ P.

Atypical mycobacteria isolated from diagnostic material.

Acta Microbiol. Ac. Sci. hung 1970 17 371-379.

- 25 - HAUDUROY P., HAVANESSION A., ROUSSIANOS D.,
Etude de quelques variétés scotochromogènes à
Mycobacterium kansasii et en particulier de leur
pouvoir pathogène pour le hamster.
Ann. Instit. Pasteur 1965 III 109-138.
- 26 - HAUDUROY P., BEAL F., HAVANESSION A.
Agglutinabilité par un sérum spécifique 1966 103-104.
- 27 - HUEMPENER H.R., KINGSOLVER W.R., DEUSCHLE K.W.
Tuberculous meningitis caused by bot mycobacterium
tuberculosis and atypical mycobacteria.
Amer. Rev. Resp. Dis. 1966 94 612 - 614.
- 28 - JONES W. D., KUBICA G.P., SAITO H.
Fluorescent antibodies technic with mycobacteria.
Amer. Rev. Resp. Dis. 1965 92 255 - 260.
- 29 - JOOS H.A., HILTY L.B., COURINGTON D., SCHAEFFER
W.B., BLOCK M.
Fatal disseminated scotochromogenic mycobacte-
riosis in a child.
Amer. Rev. Resp. Dis. 1967 96 795 - 798.
- 30 - LAMY P., DELAVERGNE E., ANTHOINE D., VAILLANT
J.C., GEORGE et Melle IMBS M.A.
Nouvelle observation d'une infection broncho-pul-
monaire à Mycobacterium avium.
Lille Méd. Path. Thorac. 1970 15 334 - 338.
- 31 - LECASSIE F.
Les adénites à bacilles paratuberculeux chez
l'enfant.
Thèse Méd. PARIS 1959.

32 - LE LIEUR G.M.

Infection à *Mycobacterium xenopi*.
Thèse de Méd, 1968 ^{PARIS} 541.

33- LE LIRZIN M., CANETTI G.

Diagnostic des affections à mycobactéries atypiques,
Gaz. Méd. 1971 78 1335 - 1342.

34 - MAGNUSSON M.

Specificity of mycobacterial sensitins I studies in guinea pigs with purified tuberculin prepared from mammalian and avian tubercle bacilli *Mycobacterium balnei* and other acid fast bacilli.
Amer. Rev. Resp. Dis. 1962 86 57 - 68.

35 - MAGNUSSON M., ENGBAEK H.C., BENTZON M.W.

Specificity of mycobacterial sensitins II studies in guinea pigs with purified sensitin prepared from unclassified acid fast bacilli.
Amer. Rev. Resp. Dis. 1962 86 69 - 84.

36 - MAGNUSSON M.

Specificity of sensitins III further studies in guinea pigs with sensitins of various species of *Mycobacterium* *Nocardia*.
Amer. Rev. Resp. Dis. 1962 86 395 - 404.

37 - MARTINET J.P.

Contribution à l'étude de l'activité pathogène des mycobactéries chez la souris.
Thèse Méd. Lyon 1963.

38 - MEISSNER G.

Epidémiologie des infections humaines à mycobactéries atypiques, les origines de la contamination.
Rev. Tuberc. Pneumol. 1970 34 5 - 16.

39 - MOREAU J.P.,

Contribution à l'étude des affections pleuro-pulmonaires à mycobactéries atypiques,
Thèse PARIS 1968.

40 - NOUFFLARD H., GUY-LOE

Infection ganglionnaire à mycobactéries atypiques,
Gaz. Méd. 1971 78 1321 - 1330,

41 - NOUFFLARD H., GUY-LOE

Etude clinique des infections extra-pulmonaires à mycobactéries atypiques,
Lille Méd. 1970 15 283 - 291.

42 - ONET E., FANEA E., VAIDA T.

Recherche sur la fréquence et les types de mycobactéries isolées chez les porcs apparemment sains,
Rec. Méd. Vét. 1971 147 1225 - 1233.

43 - ONSTAD D.G.

Familial aggregation of group I atypical mycobacteria disease,
Amer. Rev. Resp. Dis 1969 99 426 - 429.

44 - PALMER C.E. and LONG M.W.

Affect of with atypical mycobacteria on BCG vaccination and tuberculosis,
Amer. Rev. Resp. Dis. 1966 94 553 - 558.

45 - SATGE P., SARRAT H., DEBROISE A., SENGHOR G., ARNAUD M., BOAL R.

L'allergie tuberculinique chez l'enfant africain (influence de l'état nutritionnel et des mycobactéries atypiques).
Arch. Franc. Péd. 1971 28 763 - 778

46 - RIST N.

Insoniazide tuberculose et Mycobactérioses.
Gaz. Méd. de France 1971 78 1299 - 1302.

47 - SIMON C.

Infections par les mycobactéries atypiques.
Péd. 1966 21 1 - 33.

48 - TACQUET A., VOISIN C., MACQUET V.

Les infections à mycobactéries atypiques au cours
des pneumoconioses des mineurs de charbon.
Journées de Lille 10 et 20 Juin 1959
Poumon et Coeur 1960 16 215.

49 - TACQUET A., TISON F., DEBRUNYE J. et DUBAR R.

Identification sérologique des espèces mycobacté-
riennes par la méthode de fixation du complément.
Lille Méd. 1970 15 292 - 297.

50 - TACQUET A., TISON F., POLSPOEL B., ROOS P.,
DEVULDER B.

Etude de la β -D galactosidase des mycobactéries.
Ann. Instit. Pasteur 1966 111 86 - 89.

51 - TACQUET A., TISON F., ROOS P., DEVULDER B.

Test qualitatif simple d'étude de l'activité lipasi-
que des mycobactéries.
Ann. Instit. Pasteur 1966 110 784 - 787.

52 - TEYSSEYER L., ROCHER R., KARAMBRUNG., MONNEAU J.,
RUFFINO J., LESOBRE R.

Pneumopathies à Mycobacterium xenopi.
Lille Méd. Path. Thorac. 1970 15 323 - 327.

53 - TISON F., CARBONNELLE B.

Recherche, isolement et étude du bacille tuberculeux et des autres mycobactéries en pratique courante.

Ed. CROUAN et ROQUES 1972 20 -339.

54 - TISON F., TACQUET A., DEVULDER B.

Recherche de la présence des mycobactéries dans la nature.

Rev. Tuberc. Pneumol. 1968 32 893 - 902.

55 - TISON F., TACQUET A., DEVULDER B.

Recherche des mycobactéries dans les eaux de piscine et les eaux usées de la région du Nord. Résultats.

Ann. de l'Inst. Pasteur 1967 18 167 - 176.

56 - UGANDA BURULI GROUP

BCG vaccination against *Mycobacterium ulcerans* infection.

LANCET 1969 I III 111 - 115.

57 - VALETTE L., JOUBERT L., OUDAR J.

Depistage allergique global des infections mycobactériennes. Préparation et contrôle sur cobaye des sensitines purifiées.

Bull. Acad. Vét. 1968 41 119 - 128.

58 - VIALLIER J., LANERY R., LAHNECHE J.

Activité pathogène pour le hamster de différentes espèces de mycobactéries.

Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. comp. 1967 69 393-404.

59 - VIALLIER J.

Activité bactériostatique et bactéricide exercée par la Rifampicine sur les mycobactéries.

Rev. Tubercul. et Pneumol. 1969 33 bis 39 - 52.

- 60 - VIALLIER J., DESPIERRES G., EZIRA P.

Épidémiologie des mycobactérioses humaines à *Mycobacterium kansasii*. Recherche du germe dans la nature en particulier dans des poussières de mine et de charbon.

Lille Méd. Path. Thorac. 1970 15 339 - 340.

- 61 - VIALLIER J., AUGAGNEUR J.

Renseignements fournis par l'utilisation systématique du test à la niacine dans l'identification des mycobactéries, isolées dans les produits pathologiques.

C. R. Soc. Biol. 1961 155 1641 - 1642.

- 62 - VIALLIER J.

Immunité de surinfection apportée par l'infection des mycobactéries atypiques (essais expérimentaux chez l'animal)

Bull. Soc. Biol. Vét. et Méd. 1971 73

- 63 - VIALLIER J.

Etude critique des procédés actuels de mise en évidence des mycobactéries atypiques et bacilles tuberculeux dans les produits pathologiques humains et des résultats qu'ils fournissent.

Journal Méd. Lyon 1971 1213 119 1136.

- 64 - VIALLIER J., LANERY R.

Sur l'activité catalasique des mycobactéries.

C. R. Soc. Biol. 1960 154 2307 - 2308.

- 65 - VIALLIER J., AUGAGNEUR J., LANERY R.

Valeur du test de la réduction des nitrates pour l'identification des mycobactéries.

C. R. Soc. Biol. 1961 155 2380.

- 66 - VIALLIER J., AUGAGNEUR J.

Hydrolyse de l'urée dans l'identification des mycobactéries.

C.R. Soc. Biol. 1961 155 1300 - 1301.

- 67 - VIALLIER J.

Valeur sémiologique de l'isolement des mycobactéries atypiques dans les produits pathologiques humains.

Epidémies et endémies de mycobactérioses.

Journal de Méd. Lyon 1972 1222 137 - 150.

- 68 - VIALLIER J., JOUBERT L.

Epidémiologie des infections à mycobactéries atypiques. Leurs conséquences allergologiques et immunologiques.

Méd. Mal. Inf. 1972 2819 285 - 294.

- 69 - VISCHER W.A.

A selective medium with hexamethyl phosphoric acid triamide for isolation of atypical mycobacteria.

Zbl. Bakt. Hyg. 1972 1 obt. orig. A 220 550 - 553.

- 70 - WEISZFEILER G., VALENTINA KARASSEVA and KARCZA G. ERIKA

A new mycobacterium species. Mycobacterium asiaticum NSP.

Acta microbiol. Acad. Sci. Hung 1971 18 247 - 252.

- 71 - YAMAMOTO M., OGURA Y., SUDO K. and HIBINO S.

Diagnostic criteria for disease caused by atypical mycobacteria.

Amer. Rev. Resp. Dis 1967 96 773 - 778.

- 72 - YAMAMOTO M., SUDO K., TAGA M., and HIBINO S.

A study of disease caused by atypical mycobacteria in Japan.

Amer. Rev. Resp. Dis. 1967 96 779 - 787

TABLE DES MATIERES

	pages
<u>I. INTRODUCTION & HISTORIQUE</u>	1
<u>II. ETUDE BACTERIOLOGIQUE</u>	8
<u>A. IDENTIFICATION DES MYCOBACTERIES</u>	9
1) <u>Technique de décontamination</u>	9
2) <u>Technique de détection optique des mycobactéries.</u>	10
a- La technique classique de Ziehl-Nelsen ;	
b- La technique dercoloration de Tan-Tiam-Hok modifiée par Devulder ;	
c- Microscopie en fluorescence ;	
<u>B. CRITERES D'ORIENTATION DE DIAGNOSTIC DE L'ESPECE</u>	
1) <u>Reconnaissance du genre Mycobacterium</u>	
a- La vitesse de la primo-culture	
b- Aspect des colonies (Test sur milieu Loewenstein Jensen et de Coletsos)	
c- Pigmentation de la culture ;	
d- Séparation de différentes mycobactéries dans une culture ;	
2) <u>Etude des caractères biochimiques</u>	
a- Extraction de l'acide nicotinique ;	
b- Réaction au BSH ou test à l'hydrazide de l'acide thiophène 2 carboxylique	
c- Hydrolyse de l'urée	
d- La réduction des nitrates en nitrites	
e- Activité catalasique	
f- Estérase et lipase	
g- Réduction des nitrites en nitrites en nitrate en surface, TISON, CARBONNELLE	
h- Transformation de citrate de fer ammoniacal par TACQUET, TISON,	
i- Activité amidasique des mycobactéries	
j- Etude de l'utilisation des hydrates de carbone par mycobactéries	
k- Recherche de l'activité arylsulfatique	
l- Recherche de phosphatases acides	
m- Mise en évidence de peroxydase	
n- Transformation de paranitrophénol	
o- Recherche de la β D-galactosidase	
p- Autres méthodes.	

3) Sensibilité de mycobactéries aux myco-
bactériophages

49

C. METHODES INDIRECTES

50

1) Mise en évidence des anticorps circulants

- a- La réaction d'agglutination
- b- La réaction d'immunofluorescence
- c- La réaction de fixation du complément
- d- La réaction d'immuno-précipitation

2) Renseignements fournis par l'étude d'hyper-
sensibilité de type retardé

68

- a- In vivo
- b- In vitro

III. INFECTIONS EXPERIMENTALES DES MYCOBACTERIES ATYPIQUES 70

INFECTIONS EXPERIMENTALES DU COBAYE

INFECTIONS EXPERIMENTALES DE LA SOURIS

INFECTIONS EXPERIMENTALES DU HAMSTER

INFECTIONS EXPERIMENTALES DU LAPIN

IV. CLASSIFICATION DES MYCOBACTERIES ATYPIQUES

79

CLASSIFICATION DE RUNYON

CLASSIFICATION DE RUNYON amélioré par les auteurs anglo-
saxons

CLASSIFICATION par la METHODE IMMUNO-CHIMIQUE

V. EPIDEMIOLOGIE DE MYCOBACTERIES ATYPIQUES

87

FREQUENCE

MODE DE CONTAMINATION

VI. DIAGNOSTIC CLINIQUE ET CRITERES DE DIAGNOSTIC

99

FORMES CLINIQUES

103

- a - Formes broncho-pulmonaires pures
- b - formes broncho-pulmonaires mixtes

- c - Formes ganglionnaires
- d - Formes urinaires
- e - Formes cutanées
- f - Formes osseuses
- g - Formes généralisée
- h - autres formes

ATTEINTE DES SEREUSES

VII. <u>EVOLUTION ET PRONOSTIC</u>	112
INFECTIONS A MYCOBACTERIUM . KANSASII	
INFECTIONS A MYCOBACTERIUM DU GROUPE AVIAIRE	
INFECTIONS A MYCOBACTERIUM , XENOPI	
INFECTIONS A MYCOBACTERIUM SCROPULACEUM	
INFECTIONS A MYCOBACTERIUM , FORTUITUM ET GORDONAE	
VIII. <u>TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE DE MYCOBACTERIOSES</u>	116
TRAITEMENT	
PROPHYLAXIE	
IX. <u>OBSERVATIONS PERSONNELLES</u>	123
X. <u>CONCLUSION</u>	129
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	135

